VOL. IX, No. 1
UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
SEPTEMBER 1957

PLANT AND SOIL

International Journal of Plant Nutrition, Plant Chemistry, Soil Microbiology and Soil-borne Plant Diseases

MARTINUS NIJHOFF — PUBLISHER — THE HAGUE

PLANT AND SOIL

International Journal of Plant Nutrition, Plant Chemistry, Soil Microbiology and Soil-borne Plant Diseases

Revue internationale de nutrition des plantes, de chimie végétale, de microbiologie du sol et des maladies des plantes en rapport avec le sol

Internationale Zeitschrift für Pflanzenernährung, Pflanzenchemie, Bodenmikrobiologie und bodenbedingte Pflanzenkrankheiten

Issued under the auspices of the "Koninklijk Genootschap voor Landbouwwetenschap" (Royal Netherlands Society of Agricultural Science)

Executive Editors: D. I. Arnon, Berkeley; J. Baeyens, Louvain; F. C. Gerretsen, Groningen; G. W. Harmsen, Groningen; E. G. Mulder, Wageningen; F. J. Richards, London; A. C. Schuffelen, Wageningen; F. Steenbjerg, Copenhagen. **Secretary:** G. H. Arnold, Groningen.

Consulting Editors: Wm. A. Albrecht, Columbia, Mo.; C. Arnaudi, Milan; E. Gäumann, Zurich; L. Gisiger, Liebefeld-Berne; F. G. Gregory, London; A. J. de Groot, Groningen; J. den Holder, Ghent; T. H. van den Honert, Leyden; V. J. Koningsberger, Utrecht; J. Lavollay, Paris; W. J. Lütjeharms, Bloemfontein; H. Lundegårdh, Uppsala; E. Melin, Uppsala; M. Mes, Pretoria; M. Ødelien, Ås; E. J. Petersen, Copenhagen; C. S. Piper, Adelaide; H. G. Thornton, Harpenden, Herts.; S. Tovborg Jensen, Copenhagen; A. I. Virtanen, Helsinki; S. A. Waksman, New Brunswick; F. W. Went, Pasadena; Joh^{a}. Westerdijk, Baarn; J. G. Wood, Adelaide.

CONTENTS: TABLE DES MATIÈRES: INHALT:

E. G. Mulder, Jan Smit 1885-1957 1

D. L. Askinazi et *K. E. Guinsbourg,* Problème de la diminution du phosphore dans l'extrait acétique des sols 3

L. Leyton, The relationship between the growth and mineral composition of the foliage of Japanese larch 31

K. Scharrer und *J. Jung,* Über den Einfluss verschiedener Anionen auf die Aufnahme von Calcium, Natrium und Kalium . . . 49

Robert A. Steinberg and *R. N. Jeffrey,* Comparison of pruning (topping, suckering) effects in normal and boron-deficient tobacco on relative growth and alkaloid content of leaf, stalk, and root 64

L. K. Wiersum, The relationship of the size and structural rigidity of pores to their penetration by roots 75

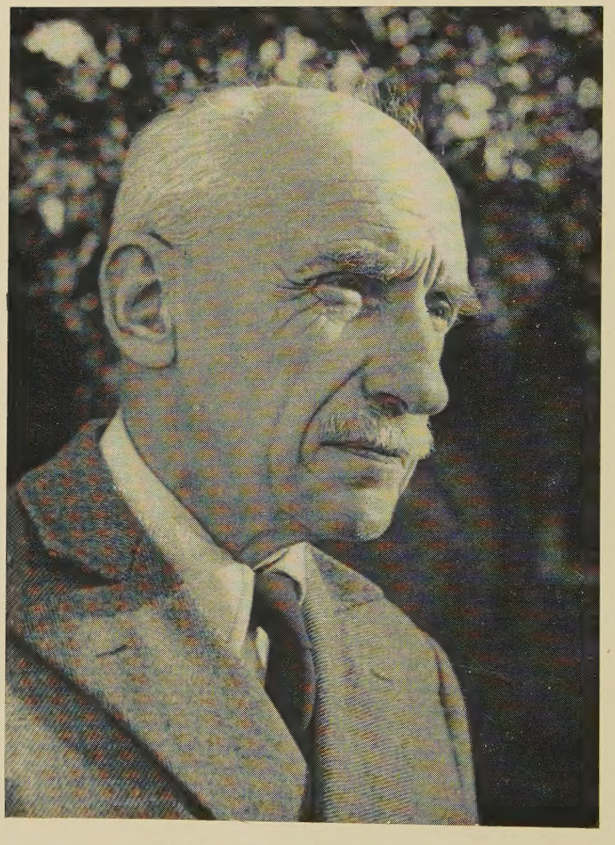
P. R. Hesse, Sulphur and nitrogen changes in forest soils of East Africa 86

Printed in the Netherlands

Plant and Soil IX, 1—96 The Hague September 1957

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/plant-and-soil_1957-09_9_1



JAN SMIT 1887-1957

Plant and Soil IX no. 1 September 1957

JAN SMIT 1885-1957

Dr Jan Smit, Emeritus Professor of Microbiology at the Agricultural University of Wageningen and Consulting Editor of Plant and Soil, died at Deventer, in the Netherlands on June 14th.

Jan Smit was born on October 30, 1885 at Amsterdam. He studied chemistry and microbiology at the University of his native city, but he received his main microbiological training in Beijerinck's laboratory at Delft, where he wrote a thesis on: „Bacteriological and chemical investigations on lactic-acid fermentation". After receiving his doctorate Smit accepted an appointment in the Food-inspection Department at Groningen. Two years later he moved to Delft and a few years later to Rotterdam, where he held a position as industrial microbiologist. In 1919 he was appointed a microbiologist in the Public Health Department of Indonesia, where he was engaged on problems chiefly concerned with the microbiology of drinking water and sewage. He stayed in Java for three years and then returned to Amsterdam, where he held the position of Reader in Microbiology until 1936 when he was appointed Professor of Microbiology at the Agricultural University of Wageningen. Smit retired in October 1956. Early in 1957 his health deteriorated and on June 14 a sudden complication necessitated an emergency operation, his heart failed and he died at the age of nearly 72 years.

With the death of Professor Smit, so soon after the death of Kluyver in 1956, Holland has lost another outstanding microbiologist. For more than 40 years Smit served microbiology and biochemistry as a research worker, as a teacher, and as a leading man in microbiological, biochemical and chemical societies.

Smit was an all-round microbiologist. The first years of his scientific life were concerned mostly with the biochemistry of microorganisms. In Java it was the microbiology of drinking water and sewage which drew his attention. It was in this particular field of

microbiology that Smit could be considered one of the leading authorities of the Netherlands and perhaps of the whole world. During the last 30 years he has added a great number of contributions to our knowledge of the microbiology of water.

During his professorship at Wageningen, Smit's research activities were mainly concerned with the organization of investigations in agricultural microbiology. An extensive research programme was carried out in his laboratory on the effect of trace elements on the growth of micro-organisms and on microbiological transformations of trace elements in the soil. Assay methods for the estimation of trace elements have been worked out using *Aspergillus niger* as the test organism.

Other important soil-microbiological investigations carried out in Smit's laboratory were concerned with the decomposition of pectin, chitin, and „milk-wool" (formol-hardened casein fibres) by micro-organisms.

In collaboration with a number of his pupils he divised bacteriological methods for milk testing.

Smit was a brilliant speaker, able to lecture in English, French and German as easily as in his native language. No wonder he frequently represented his country at scientific congresses, where he was a welcome speaker.

Smit was highly esteemed by his friends, by his colleagues in the University, and by his students, for his outstanding qualities of mind and character.

Wageningen E. G. MULDER

Plant and Soil IX, no. 1 September 1957

PROBLÈME DE LA DIMINUTION DE LA FIXATION DU PHOSPHORE DANS L'EXTRAIT ACÉTIQUE DES SOLS

par D. L. ASKINAZI et K. E. GUINSBOURG

Institut de Pédologie de l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S., Moscou

INTRODUCTION

Ce travail présente des matériaux comme base de la méthode des extraits acétiques, et de l'appréciation des moyens proposés dans les travaux publiés dans le but d'améliorer cette méthode.

Habituellement pour déterminer les phosphates mobiles du sol on utilise des acides (carbonique, acétique, nitrique, sulfurique, chlorhydrique, citrique, *etc.*), dont la concentration est différente.

Les données des travaux publiés ne permettent pas de dire jusqu'à quel point ces méthodes sont fondées, et la plupart peuvent être plutôt considérées empiriques. Par exemple, lors de l'emploi de la méthode aux extraits acétiques, surgissent de nombreuses questions, par exemple: l'importance de la durée du contact entre le sol et la solution au cours de la préparation de l'extrait, la possibilité d'une fixation secondaire du phosphore par le sol, *etc.*

Comme on sait, on emploie depuis longtemps les extraits acétiques et carboniques pour déterminer les besoins des sols en engrais phosphatés (voir les méthodes: de Varrington [26], proposée en 1860, citée d'après Kostytchev [15]; de Bogdanov [3 4], de Tchirikov [22] et de Tchirikov et Volkova [23], de Davtian [6 7], *etc.*).

D'après les données de Bogdanov [4] dès 1869 Birner a recommandé l'acide acétique en tant que réactif permettant d'extraire des sols le phosphore assimilable; en France depuis 1892 on l'utilise dans les laboratoires agrochimiques (Dehérain et Meyer, Lechartier, Pagnoul, *etc.*).

Lors de l'élaboration de cette méthode, on admet que l'acide acétique peut, dans une mesure considérable, faire passer dans la solution les phosphates de calcium, que les plantes assimilent facilement, (et partiellement des phosphates d'aluminium) en ne touchant presque pas les phosphates de fer. Des données analytiques correspondantes ont été également publiées par Guédroitz [10], cependant jusqu'à présent on ne sait pas encore jusqu'à

quel point l'acide acétique fait passer complètement en solution le phosphore des phosphates de calcium et d'aluminium ayant des basicités différentes, et celui des phosphates organiques du sol.

Il faut remarquer que Guédroitz n'approuvait pas le point de vue de Bogdanov sur la méthode des extraits acétiques.

Dans un article ayant pour sujet à peu près le même thème, Prianichnikov [19], en analysant les travaux publiés sur cette question, s'arrêta sur le fait que lors de la préparation de l'extrait acétique (ou carbonique) c'est-à-dire dans les cas, où on utilize des solvants incapables de dissoudre les phosphates de fer, il y a absorption secondaire (rétrogradation) des phosphates: „l'acide phosphorique, qui passe tout d'abord dans la solution sous l'influence de ces acides, puis se lie secondairement par les parties constituantes du sol, comme c'est le cas lors de la rétrogradation du superphosphate". Lors de la discussion de cette position, Prianichnikov [19] cita les résultats des recherches faites dans ce domaine par Dehérain, Wagner, Guerlach et autres, qui considéraient que „lors du traitement du sol par l'acide acétique ou l'eau avec acide carbonique, la quantité d'acide phosphorique dans l'extrait est d'autant plus petite que l'extraction est plus longue".

C'est pourquoi Prianichnikov [19] estimait que l'extrait acétique ne pouvait servir de moyen analytique pour séparer les phosphates de chaux des phosphates de fer et de l'aluminium dans le sol.

Niant l'efficacité de cette méthode, Prianichnikov indique également les recherches qu'il fallait effectuer ultérieurement en ce qui concerne l'extrait acétique des sols: utilité de renouveler les expériences de Wagner et de Guerlach sur les différents sols, pour établir si la rétrogradation du phosphore dans l'extrait acétique est générale et d'intensité identique pour tous les sols, et d'étudier la marche de ce processus de rétrogradation des phosphates dans le temps.

Cinquante ans se sont écoulés depuis la publication de ce travail. Malgré les indications de Prianichnikov sur les bases insuffisantes et la mise au point inachevée de la méthode des extraits acétiques des sols, cette dernière continue à être largement employée dans les recherches agrochimiques.

La question de la variation au cours de la durée du contact sol-solution des quantités de phosphore de l'extrait acétique des sols a été étudiée par Lemmermann qui, en 1911, conclut que, sous ce rapport, il était préférable d'employer l'extrait citrique.

Dans un ouvrage publié récemment, Lemmermann et Rauterberg [16] ont comparé les quantités de phosphore présente dans l'extrait acétique de différents sols après 1 h ½ et 24 heures de traitement. Dans certains cas avec l'augmentation du temps de traitement la quantite de phosphore dans l'extrait augmentait; dans d'autres cas, au contraire, elle diminuait ou restait sans changement (les processus biochimiques ne pouvant dans un temps aussi court jouer un rôle appréciable). Les auteurs ne purent établir une corrélation satisfaisante entre la composition chimique des sols (teneur en humus, Ca et autres), et la fixation secondaire du phosphore de l'extrait acétique. Lemmermann et Rauterberg ont émis la supposition que,

malgré ces défauts, la méthode acétique donne toutefois des différences précises dans la teneur en éléments nutritifs (phosphore et potassium) dans le sol.

C'est pourquoi, il semblait important de continuer l'étude des nombreuses questions liées à la possibilité de l'emploi des extraits acétiques pour différents sols, de connaître et d'expérimenter une série de nouvelles variantes de cette méthode proposées ces dernières années dans les travaux publiés et mises au point dans le but de diminuer la fixation secondaire du phosphore pendant la préparation des extraits acétiques.

On a publié ces derniers temps des recherches détaillées sur la question de la fixation secondaire des phosphates au cours du processus de leur extraction du sol à l'aide d'acide acétique. Ce sont les travaux de Cooke [5]. Dans le but de prévenir une absorption secondaire des phosphates pendant la préparation des extraits acétiques des différents sols Ghani [8] et C. H. Williams [27] proposèrent d'ajouter à l'acide acétique de la 8-hydroxyquinoléine qui peut précipiter les ions Al, Mn, Fe, *etc.* Cooke proposa d'ajouter de l'acide sélénieux à l'acide acétique.

La méthode de Ghani [8] est la suivante: 1 g de sol est agité pendant 1–2 heures dans 200–250 ml d'une solution 0,5 *N* CH_3COOH, contenant 5% de 8-hydroxyquinoléine. Dans le produit filtré la teneur en phosphore est déterminée par methode colorimétrique.

8-Hydroxyquinoléine se dissout difficilement dans une solution sulfomolybdique et précipite au cours de l'analyse, ce qui empêche une détermination colorimétrique du phosphore. C'est pourquoi au cours de l'analyse il faut détruire la 8-hydroxyquinoléine par calcination. Dans ce but, à 10 ml de la solution analysée on ajoute 0,5 ml d'une solution *N* d'acétate de magnésium, puis le mélange est évaporé et calciné; la cendre obtenue est traitée dans 15 ml *N* HCl, puis à nouveau évaporée, dissolue dans 5 ml *N* HCl et transportée à l'aide d'eau chaude dans les éprouvettes de mesure colorimétrique. La validité de ce mode operatoire a été verifiée sur des solutions-types additionnées de 8-hydroxyquinoléine à 1%, ce qui a donné une bonne reproduction des résultats lors de l'analyse des sols.

L'application de cette méthode par Ghani sur 22 sols de l'Inde a montré que l'addition de 8-hydroxyquinoléine à CH_3COOH a considérablement augmenté la quantité de phosphore du sol solubisable par l'acide acétique, en particulier, lors d'une suspension de pH voisin de 4–5 (élévation absolue jusqu'à 20 mg P_2O_5 pour 100 g de sol).

Lorsque le pH du sol augmente l'effet de l'addition de 8-hydroxyquinoléine diminue, surtout lorsque le pH atteint environ 7–8. D'après les travaux de Ghani [8] on voit que, pour la détermination des phosphates mobiles, on doit ajouter la 8-hydroxyquinoléine dans les extraits acétiques dans les cas de sols à réaction acide.

C. H. Williams [27] a continué les recherches de Ghani. Les résultats des recherches de Williams montrent que la 8-hydroxyquinoléine diminue mais n'annule pas l'absorption secondaire par le sol des phosphates se dissolvant pendant le contact entre le sol et la solution acétique.

Cooke [5] a également étudié l'importance de l'addition de différents

réactifs à l'extrait acétique pour prévenir la fixation secondaire du phosphore par le sol. On a expérimenté les réactifs suivants: acide sélénieux, 8-hydroxyquinoléine, morin, quinalyzarine, acide citrique, acide oxalique, *etc.*

Pour établir l'importance de ces additions dans les extraits acétiques, Cooke [5] a composé en laboratoire différentes préparations d'oxydes des métaux que l'on peut trouver dans le sol (TiO_2, Fe_2O_3, Al_2O_3 et MnO_2). Puis il a étudié la fixation du phosphore par ces oxydes métalliques en présence d'acide acétique seul ou d'acide acétique de différents réactifs (acide sélénieux, 8-hydroxyquinoléine, *etc.*).

Les expériences sur la fixation du phosphore ont été effectuées avec un même pH initial d'environ 2,5 de la solution d'extraction.

Il résulte des expériences de Cooke que l'acide sélénieux est le réactif qui donne les meilleurs résultats: une solution d'acide sélénieux de 0,5% dans une solution 0,5 *N* CH_3COOH a abaissé dans les conditions de l'expérience la fixation de phosphore en présence de chacun des 3 oxydes (Fe_2O_3, Al_2O_3 et TiO_2), depuis environ 100% jusqu'à des grandeurs très petits. MnO_2 a fixé des quantités comparativement petites de phosphore, mais dans ce cas également l'acide sélénieux a en partie empêché la fixation du phosphore par MnO_2.

Dans des expériences ultérieures, Cooke [5] a aussi rassemblé des données sur l'influence de l'addition d'acide sélénieux aux les extraits acétiques pour l'établissement de la teneur en phosphate mobile dans différents sols.

Les résultats de cette expérience ont montré les différents degrés de l'influence positive de l'acide sélénieux sur une extraction complète des phosphates ajoutés au sol par rapport à leur capacité de la fixation du phosphore.

Dans les sols de plantations de betteraves, fixant peu de phosphore, l'addition d'acide sélénieux à l'acétique n'a pas augmenté la quantité de phosphore dans l'extrait par rapport à l'acide acétique seul.

Dans une autre série de prélèvements de 6 sols britanniques fixant fortement les phosphates, l'acide sélénieux diminua en moyenne à peu près de 2 fois la fixation secondaire des phosphates par le sol.

Par conséquent, l'addition d'acide sélénieux à l'extrait acétique n'annule pas l'aptitude du sol à fixer les phosphates, mais l'abaisse seulement à un degré différent. Cela indique la diversité des facteurs conditionnant la fixation des phosphates par les sols. La nature de l'action de l'acide sélénique consiste en la formation dans le sol de sélénites de Fe et de Ti, insolubles à pH 2,5; mais dans ces conditions il est plus difficile de précipiter les sélénites d'Al dans la forme insoluble. Examinant le mécanisme de l'action de l'acide sélénieux Cooke [5] suppose que les ions sélénieux peuvent remplacer les ions OH à la surface des hydrates des sesquioxydes; grâce à la dissociation peu importante des complexes formés, le phosphore ne se combine pas à eux. La question du mécanisme de l'action de l'acide sélénieux diminant la fixation du phosphore de l'extrait acétique des sols et d'autres adsorbants mérite d'être étudié ultérieurement.

Ainsi il faut reconnaître que la méthode des extraits acétiques est techniquement la plus simple; et c'est pourquoi elle conviendrait pour les recher-

ches effectuées à une vaste échelle sur le phosphore mobile des sols; cependant d'après ce qui vient d'être exposé on voit que lorsqu'on applique cette méthode, il y a une fixation secondaire par le sol du phosphore passé dans la solution; cette dernière circonstance entraîne la nécessité d'étudier des variantes plus compliquées diminuant la fixation secondaire du phosphore lors de la préparation d'extraits acétiques des sols. Dans ce but il semble rationnel de comparer les résultats de l'extraction de phosphates mobiles du sol à l'aide d'acides acétique et sélénieux et de leurs mélanges en comparaison avec un mélange d'acide acétique avec la 8-hydroxyquinoléine et d'autres réactifs.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Trois questions sont examinées dans ce travail:

I. Influence du temps de contact de l'acide avec le sol sur la quantité de phosphore passant dans les extraits acétiques de différents sols.

II. Influence des additions de différents réactifs à l'acide acétique pour prévenir (ou diminuer) une fixation secondaire du phosphore par le sol.

III. Solubilité comparée du phosphore des préparations des phosphates minéraux et organiques dans des acides dilués employés pour la détermination du phosphore mobile du sol.

Dans les expériences pratiques on a étudié la capacité de différents sols pour une fixation secondaire du phosphore dans les conditions d'extraits acétiques, et aussi le cours du processus de fixation du phosphore par les sols dans le temps.

Description de l'expérience

A 2 g de sol mis dans des éprouvettes on a ajouté 50 ml d'une solution 0,5 *N* d'acide acétique. Les suspensions obtenues ont été ensuite soumises écheloppées à une agitation mécanique rotatoire pendant des durées de 5 minutes à 2 heures. Pour des contacts plus longs on agite pendant une heure la suspension puis on a agité périodiquement à la main deux fois par jour.

Pour prévenir une fixation biologique du phosphore on a ajouté aux suspensions de sols quelques petite cristaux de thymol. Il est possible qu'on n'ait pas obtenu dans ces conditions une stérilité complète. C'est pourquoi la diminution de la teneur dans les extraits acétiques lors de longs séjours peut être partiellement liée non seulement à une fixation secondaire physico-chimique du

phosphore, mais aussi à une fixation biologique (peut-être par la flore cryptogamique).

Vers la fin des délais fixés dans l'expérience d'agitation et de séjour, on a déterminé colorimétriquement le phosphore dans les extraits filtrés par méthode de Truog-Meyer (voir Kheifetz [14]).

Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau I.

D'après les données de ce tableau on voit que le passage du phosphore dans l'extrait acétique des sols augmente sensiblement dans le temps jusqu'à un séjour de 2 heures; les chiffres ne changent presque pas au cours de 2 jours (48 heures); ensuite la quantité de phosphore passée dans la solution diminue graduellement après 7, 14 et 30 jours (dans de nombreux cas à peu près de 2 et même 3 fois).

Un abaissement particulièrement brusque de la quantité de phosphore soluble dans l'acide acétique a été constaté sur un sol épais de prairies (prélèvement pris près de la rivière Latoritza, région de Moukatchev, Subcarpathes), avec 11,9 mg P_2O_5 après 2 heures, jusqu'à 1,9 mg P_2O_5 sur 100 g de sol après 30 jours. A peu près du même ordre a été la diminution de la quantité de phosphore passant dans l'extrait acétique dans le temps d'après les observations faites sur d'autres sols jeltozémiques faiblement podzoliques (Lenkoran) (de 12,4 après 2 jours jusqu'à 1,7 mg après 14–30 jours) et sur un sol gris forestier de la station de sélection d'Ouzounovo, région de Moscou, (de 10.9 après 2 heures jusqu'à 1,9 mg P_2O_5 après 30 jours). D'autre part sur un krasnozem fortement fertilisé prélevé à Anaséouli (près de Batoumi, Institut de l'U.R.S.S. du thé et des cultures subtropicales), on n'a pratiquement pas obtenu de différence sensible dans la quantité de phosphore passant dans l'extrait acétique avec augmentation du temps de contact. Il est possible que, dans ce dernier cas, c'est-à-dire dans le krasnozem, absorbant fortement le phosphore, il se passe un plus rapide équilibre dans le système sol-solution contenent du phosphore.

Sur la base des résultats obtenus on peut supposer que dans la première période d'interaction du sol avec l'acide acétique (au cours de 2 heures) il se passe simultanément deux processus: dissolution du phosphore et son fixation secondaire par le sol, avec prédominance du processus de dissolution. Dans la période suivante d'interaction du sol avec l'acide acétique 0,5 *N* (de 2 à 24 heures), il s'établit pour la plupart des sols un certain équilibre dynamique,

TABLEAU I

Influence du temps de contact entre le sol et la solution sur la quantité du phosphore extrait des sols par CH_3COOH 0,5 N. Rapport sol : solution = 1 : 25. Résultat exprimés en mg P_2O_5 pour 100 g de sol.

Sols	Prof. en cm	Temps de séjour							
		5 min.	30 min.	2 heures	24 heures	48 heures	7 jours	14 jours	30 jours
Tchernozem* épais, argileux. Non fertilisé. Région de Koursk	0-20	5,0	7,5	8,8	10,4	11,9	10,0	7,2	5,0
Le même, fertilisé par superphosphate	0-20	7,5	10,9	12,2	13,1	14,4	13,1	9,1	6,2
Sol dernovo-podzolique, moyennement argileux. Station expér. agrochimique de Dolgoproudnyi, rég. de Moscou	0-20	1,4	2,2	4,8	3,6	3,8	2,7	1,9	1,9
Sol dernovo-podzolique limoneux, podzol du champs d'essai de Lioubertsi, rég. de Moscou	0-20	1,5	4,2	7,2	8,2	9,4	10,0	8,6	7,8
Sol forestier gris de la station de sélection d'Ouzounovo, reg. de Moscou	0-20	3.1	6,6	10,9	8,5	8,1	6,0	3,3	1,9
Sol forestier gris foncé, fortement fertilisé Station expér. de Novosil, rég. de Toula	0-20	19,4	19,4	26,2	31,3	33,0	19,0	17,5	14,4
Krasnozem** non fertilisé, d'Anaséouli, près de Batoumi (Institut du thé et de cultures subtropicales)	0-15	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Le même sol, trois fois fertilisé par 480 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate	0-15	3,0	3,1	3,1	3,3	3,6	3,6	N.D.	N.D.
Le même sol trois fois fertilisé par 960 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate	0-15	3,0	8,0	8,8	9,7	10,2	10,0	8,9	9,0
Jeltozem† fortement podzolisé (Lenkoran, RSS d'Azerbaïdjan)	10-20	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.	Tr.
Le même sol faiblement podzolisé	25-35	3,0	12,0	15,0	16,0	12,4	6,6	1,6	1,7
Sol forestier brun clair à glev (Bénédikovtzi, rég. subcarpathique)	0-10	0,6	0,6	1,0	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Sol forestier brun clair faiblement gleyeux, sous-sol rouge d'érosion (Véliki Rakovetz, rég. subcarpathique)	0-10	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Sol de prairie à horizon épais (rég. subcarpathique)	0-10	2,8	8,3	11,9	8,5	8,3	3,8	2,3	1,9

* Tchernozem = terre noire; ** Krasnozem = terre rouge; † Jeltozem = terre jaune.

lorsque la quantité de phosphore passant dans la solution et la quantité absorbée à nouveau par le sol sont à peu près égales.

Lors d'un contact encore plus long du sol avec CH_3COOH 0,5 *N* (une semaine et plus) le processus de fixation secondaire du phosphore par le sol commence à dominer sur le processus de la dissolution. Ces expériences ont établi l'utilité de recommander pour la préparation d'extraits acétiques un séjour des sols dans l'acide acétique d'une durée comprise entre 2 et 24 heures avant filtration.

Par conséquent dans nos expériences pratiquées sur différents types de sols de l'U.R.S.S. nous n'avons pas obtenu la confirmation des données de Wagner et Guerlach sur la diminution réguliere de la quantité de phosphore mobile dans les extraits acétiques, commençant dès les premiers instants de contact entre le sol et l'acide.

Voici maintenant des données sur l'influence du temps de contact des sols avec différents mélanges acides [tampon acétique de Morgan; mélange d'une solution d'acide acétique 0,5 *N* avec 1% de 8-hydroxyquinoléine; acide acétique 0,5 *N* avec 0,5 g de „Cationite" (K–Ou–1); solution d'acide sélénieux 0,5%, et enfin solution d'acide citrique 1%] sur la quantité de phosphore passant dans les extraits. Ces données sont importantes pour donner une base à la méthode de préparation de différents extraits acétiques des sols.

Des expériences de laboratoire ont été practiquées sur les 4 sols suivants: 1) tchernozem épais argileux lourd prélevé à la station expérimentale d'amendement des sols de la zone de Koursk; 2) sol podzolique argileux (un assolement), station expérimentale de Dolgoproudny, région de Moscou; 3) krasnozem prélevé à Anaséouli (Institut de l'U.R.S.S. du thé et des cultures subtropicales), fertilisé trois fois par 960 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate et 4) jeltozem podzolique faiblement limoneux du kolkhoze „Avrora", Lenkoran, R.S.S. d'Azerbaïdjan.

L'expérience a été pratiquée dans les mêmes conditions que dans le cas du séjour des sols avec de l'acide acétique.

Les résultats obtenus, représentés au Tableau II, permettent de noter ce qui suit (comparer avec les données correspondantes du Tableau I).

TABLEAU II

Influence du temps de séjour du sol avec différents acides pour le passage du phosphore dans l'extrait (2 g de sol + 50 ml de solution).
Resultats exprimés en mg P_2O_5 pour 100 g de sol.

Sols	5 min.	30 min.	2 heures	24 heures	12 jours
CH_3COOH + CH_3COONa, pH = 4,8					
Tchernozem épais limoneux lourd, prélèv. 52	1,0	1,0	3,7	3,7	5,6
Le même, prélèv. 27	3,1	4,7	—	7,5	7,5
Sol dernovo-podzolique moyennement limoneux	1,0	1,4	1,9	1,9	3,8
Krasnozem trois fois fertilisé par 960 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate	7,5	9,5	9,5	9,5	7,5
Jeltozémique-podzolique faiblement podzolisé	1,9	2,8	3,4	3,7	2,8
CH_3COOH 0,5 N + 1% 8-hydroxyquinoléine, pH = 3,5					
Tchernozem épais, limoneux lourd, prélèv. 52	6,3	8,8	10,2	12,5	15,0
Sol dernovo-podzolique, moyennement limoneux	6,0	6,3	10,0	17,5	27,6
Krasnozem trois fois fertilisé par 960 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate	6,3	10,2	15,0	21,3	30,6
Sol jeltozémique-podzolique faiblement podzolisé	6,3	6,3	10,2	17,5	31,2
CH_3COOH 0,5 N + cationite (K-Ou-1), pH = 2,7					
Tchernozem épais, limoneux lourd prélèv. 27	17,0	24,5	—	22,0	12,0
Sol dernovo-podzolique moyennement limoneux	11,0	12,2	—	13,7	15,8
Krasnozem trois fois fertilisé par 960 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate	17,0	32,5	—	40,0	16,5
Sol jeltozémique-podzolique, faiblement podzolisé	30,0	43,0	—	30,0	17,0
Solution 0,5% d'acide sélénique, pH = 2,5					
Tchernozem épais, limoneux lourd, prélèv. 27	21,0	29,4	38,0	35,6	17,0
Sol dernovo-podzolique moyennement limoneux	9,7	11,6	15,3	15,6	14,2
Krasnozem trois fois fertilisé par 960 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate	25,0	35,6	40,0	35,6	29,5
Sol jeltozémique-podzolique faiblement podzolisé	13,8	15,0	15,3	14,1	7,8
Solution 1% acide citrique, pH = 2,3					
Tchernozem épais, limoneux lourd, prélèv. 52	20,0	24,4	24,4	33,0	35,0
Sol dernovo-podzolique, moyennement limoneux	9,4	12,5	22,0	29,0	25,0
Krasnozem trois fois fertilisé par 960 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate	26,3	40,0	48,7	55,0	37,6
Sol jeltozémique-podzolique, faiblement podzolisé	12,5	21,3	31,3	35,8	41,0

1. Avec augmentation de la durée du séjour des sols avec différent acides étudiés, jusqu'à 24 heures la quantité de phosphore passant dans les extraits augmente.

2. Lors d'un plus long séjour (12 jours) la quantité de phosphore dans les extraits acétiques, diminue en règle générale, sauf pour le mélange 0,5 *N* CH_3COOH avec 8-hydroxyquinoléine, la quantité de phosphore dans l'extrait continuant à augmenter avec le temps.

3. Par analogie avec l'extrait acétique, dans le cas de l'emploi d'autres extraits faiblement acides (voir Tableau II) on peut également recommander un séjour de 24 heures des suspensions avec agitation préalable d'une heure.

Dans la partie suivante du travail on continue l'étude de l'influence de l'addition de certains réactifs à l'acide acétique pour prévenir (ou diminuer) la fixation secondaire du phosphore par le sol. On a étudié dans ce but les extraits acides suivants:

1) CH_3COOH 0,5 *N* (pH = 2,5).
2) CH_3COOH 0,5 *N* + acétate de sodium (pH 4,8), (solution de Morgan, voir Kheifetz [14]).
3) CH_3COOH 0,5 *N* + 1% 8-hydroxyquinoléine (pH = 3,5).
4) CH_3COOH 0,5 *N* + acide sélénieux 0,5% (pH = 2,5).
5) CH_3COOH + „cationite" 0,5 g (K–Ou–1), (pH = 2,7).
6) acide sélénieux 0,5% (pH = 2,5).
7) acide citrique 1% (pH = 2,3).

Les extraits des sols ont été préparés de la façon suivante: 2 g de sol ont été traités avec une solution de 50 ml 0,5 *N* CH_3COOH ou avec un mélange d'une solution d'acide acétique avec les acides indiqués plus haut (8-hydroxyquinoléine, acide sélénieux et autres). La suspension obtenue a été agitée pendant une heure, a séjourné pendant 24 heures, puis enfin a été filtrée; dans le produit filtré après préparation adéquate (voir ci-dessous), le phosphore a été déterminé dans le filtrat par la méthode colorimétrique suivant la technique de Truog et Meyer [25].

Dans le cas d'obtention d'extraits de sols par un mélange 0,5 *N* CH_3COOH et 1% 8-hydroxyquinoléine, la teneur en phosphore a été déterminée après oxydation préalable de l'extrait selon Ghani [19] Williams [27] (voir ci-dessous).

En ce qui concerne le traitement préalable de l'extrait par le tampon acétique et de l'extrait par l'acide citrique (variante de

Guinsbourg en vue de la détermination du phosphore qu'ils contiennent, conférer l'article de Kheifetz [14]).

Description du traitement préalable des extraits de sol par 0,5 N CH_3COOH *en vue de la détermination de leur teneur en phosphore.*

20 ml de produit filtré sont placés dans des récipients en porcelaine de 50 ml et sont évaporés jusqu'à déssication au bain-marie. Le résidu sec est dissous dans 5 ml 1 N HCl et transféré dans des éprouvettes de mesure de 50 ml qui ont été plusieurs fois rincées à l'eau chaude. Après avoir refroidi et emmené le volume de la solution jusqu'à la gradation une partie de la solution est transférée dans d'autres éprouvettes de mesure de 50 ou 100 ml. Dans cette partie de la solution l'excédent d'acide est neutralisé par une solution diluée d'ammoniaque en présence de β-dinitrophénol jusqu'à ce que se forme une couleur jaune qui est supprimée par neutralisation de l'excédant d'ammoniaque par 1 ou 2 gouttes d'une solution diluée d'acide chlorhydrique ou sulfurique. Après l'addition d'une solution molybdique et de réducteur, les solutions colorées sont examinées dans un électrophotocolorimètre avec écran rouge.

Description de la traitement préalable d'extraits par des solutions CH_3COOH 0,5 N *et* H_2SeO_3 0,5%, *ou des solutions* H_2SeO_3 0,5%, *en vue de la détermination du phosphore dans ces extraits.*

Le sélénium empêche la détermination colorimétrique du phosphore. La méthode de dégagement du sélénium de l'extrait acétique du sol proposée par Cooke [5] est encombrante et minutieuse (double précipitation du sélénium avec emploi d'anhydride sulfurique gazeux et d'hydrogène sulfuré). Nous avons mis au point une technique plus simple de précipitation du sélénium des extraits.

A la base de cette technique on a mis en pratique la méthode d''Erdman (voir Kariakine [11]), suivant laquelle le sélénium est précipité en milieu chlorhydrique dans de grands volumes d'eau chaude à l'ébullition et addition gouttes à gouttes de $NaHSO_3$ jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de dépôt rouge de sélénium.

Description de la technique du travail de détermination du phosphore dans une solution en présence de sélénium.

Mode operatoire: 10 ml de produit filtré sont introduits dans des éprouvettes à fond plat de 100 ml (de préférence en verre réfractaire). On ajoute dans l'éprouvette 5 ml de HCl (3 : 1), le contenu des éprouvettes est mélangé et chauffé jusqu'au moment où la solution commence à boullir; puis dans chaque éprouvette tout en agitant on ajoute goutte à goutte 1 ml de la solution hydratée à 40% de pyrosulfite de sodium ($Na_2S_2O_5$) qui en la solution dans l'eau se transforme en bisulfite de sodium ($NaHSO_3$). A une température supérieure à 65°C dans un milieu acide chlorhydrique le pyrosulfite de sodium se décompose et forme Na_2SO_3 et SO_2. Le SO_2 dégagé au cours de l'analyse réduit H_2SeO_3 jusqu'au sélénium métallique;

il se forme au début un précipité colloïdal de sélénium brunâtre qui, si on continue l'ébullition dans l'éprouvette munie d'un réfrigérateur de retour (petit entonnoir) jusqu'au moment où la solution commence à bouillir, se transforme en 5 à 6 minutes en sélénium métallique grisâtre foncé; Ce dernier, se rassemble en petites boulettes ou dépose au fond de l'éprouvette. Le dépôt de sélénium formé dans l'éprouvette est filtré à travers un papier filtre sans cendre à filtration lente; l'éprouvette, puis le dépôt de sélénium sur le filtre, sont lavés plusieurs fois à l'eau chaude adittionée d'acide HCl. Le filtrat filtré est transversé de l'éprouvette dans des récipients en porcelaine de 100–200 ml, dont le contenu est évaporé au bain-marie jusqu'à dessication le résidu sec est dissout dans 5 ml HCl 1 *N*. On transvase dans des éprouvettes de mesure de 50 à 200 ml en lavant soigneusement les récipients en porcelaine à l'eau chaude. Après refroidissement de la solution, l'éprouvette est remplie d'eau jusqu'à la marque et son contenu est mélangé. Le contenu de l'éprouvette est filtré car souvent lors de l'évaporation de l'extrait les traces du sélénium métallique qu'il contient se précipitent et troublent la solution dans une certaine mesure. Une partie du filtrat pur est mise dans d'autres éprouvettes de mesure de 50 à 100 ml afin de procéder à la détermination colorimétrique du phosphore. Comme nous l'avons indiqué plus haut (voir ci-dessus la préparation CH_3COOH 0,5 *N* d'un extrait de sol pour détermination du phosphore) l'extrait est préalablement neutralisé.

Après la mise au point de la méthode d'elimination du sélénium à partir des solutions, on a pu passer à l'étude du rôle de l'acide sélénieux pour prévenir une fixation secondaire du phosphore par le sol lors de la préparation d'extraits acétiques.

Le Tableau III représente les données comparatives de la détermination de la quantité de phosphore dans les extraits acétiques de différents sols, sans addition et avec addition d'acide sélénieux dans la solution CH_3COOH 0,5 *N*, ou dans les extraits par des solutions d'acide sélénieux seul au même pH (environ 2,5). Le pH des suspensions de sols obtenues en fin d'expérience variait de 2,6 à 3.

Des données du Tableau III, il résulte que lors de l'emploi d'une solution d'acide acétique 0,5 *N* et de H_2SeO_3 à 0,5% une quantité beaucoup plus grande de phosphore passe dans l'extrait de sol que dans le cas de l'emploi d'une solution d'acide acétique seul, exception faite pour le tchernozem, où la quantité de phosphore dans ces extraits est la même. Ce fait peut être expliqué par une moindre teneur en sesquioxydes actifs dans le tchernozem capable de fixer le phosphore.

On voit d'après les données de ce même tableau que la quantité de phosphore passant dans le mélange CH_3COOH 0,5 *N* avec

H_2SeO_3 à 0,5% et dans la solution à 0,5% d'acide sélénieux seul a été la même dans tous les cas.

TABLEAU III

Comparisons entre quantités de phosphore dans les extraits de différents sols par l'acide acetique 0,5 *N* sans addition et avec addition de 0,5% H_2SeO_3 (2 g de sol + 50 ml solution 0,5 *N* CH_3COOH). On agite pendant une heure, 18–20 heures de repos avant filtration. (Resultats exprimés en mg P_2O_5 sur 100 g de sol).

Sols	Profond. en cm.	Quantités dans les extraits		
		0,5 *N* CH_3COOH	CH_3COOH + 0,5% H_2SeO_3	0,5% H_2SeO_3
Tchernozem épais limoneux lourd sans engrais (stat. expér. d'amendement de la zone de Koursk)	0–20	18,2	19,3	19,5
Sol dernovo-podzolique limoneux. Champ d'essai de Lioubertsi, rég. de Moscou . .	0–20	6,4	15,3	15,0
Sol dernovo-podzolique moyennement limoneux, kolkhoze „Koloss", rég. de Moscou	0–20	10,8	16,3	16,8
Krasnozem d'Anaséouli, sans engrais . .	0–15	0,6	2,5	2,2
Même sol fertilisé trois fois par 120 kg/ha P_2O_5 sous forme de superphosphate . . .	0–15	0,6	3,8	3,3
Même sol fertilisé par 960 kg/ha de P_2O_5 sous forme de superphosphate	0–15	12,2	41,0	36,0

Cela a permis de remplacer ultérieurement lors de la détermination des phosphates mobiles du sol le mélanger suivant de Cooke [5] (mélange CH_3COOH 0,5 *N* et H_2SeO_3 0,5%) par une solution d'acide sélénieux 0,5%. Comme le montrent les résultats de nos expériences, Cooke [5] n'avait pas pris en considération l'importance particulière des acides sélénieux, citrique et autres, qui non seulement abaissent la fixation des phosphates par les oxydes Fe, Al, Mn et Ti, mais font passer en même temps le phosphore mobile du sol dans la solution.

Les résultats des expériences pour l'extraction du phosphore des sols à l'aide de différentes variantes d'extraits acétiques et d'extraits par les acides sélénieux et citrique sont comparés dans les Tableaux IV et V.

Des données obtenues on peut tirer les conclusions suivantes:

1) Dans l'extrait par le mélange tampon acétique (CH_3COOH + + CH_3COONa), il passe moins de phosphore que dans l'extrait acétique.

TABLEAU IV

Comparisons entre les quantités comparatives de phosphore passant dans différents extraits acides de sols (extraits acétiques, extraits sélénieux et citriques). 2 g de sol en contact durant 24 heures avec 50 ml de solution. Résultats exprimés en mg P_2O_5 pour 100 g de sol.

Sols	Prof. en cm	Solution Morgan (CH_3COOH + CH_3COONa) pH = 4,8	Solution CH_3COOH 0,5 *N*			Solution acide sélénieux 0,5% (H_2SeO_3) pH = 2,5	Solution acide citrique 1% pH = 2,5
			pH = 2,5	+ 1% 8-hydroxy-quinoléine pH = 3,5	+ 0.5 g cationite (K-Ou-1) pH = 2,7		
I. Tchernozem épais limoneux lourd, stat. expér. et d'amendement de la zone de Koursk	0–20	3,7	13,5	12,5	22,0	16,9	27,5
II. Sol dernovo-podzolique moyennement limoneux (stat. expér. agrochimique de Dolgoproudny, 1 assolement) rég. de Moscou	0–20	1,9	4,0	17,5	13,7	15,6	29,0
III. Krasnozem (d'Anaséouli, Inst. du thé et des cultures subtrop.) trois fois fertilisé par superphosphate 960 kg/ha P_2O_5	0–15	9,5	11,0	21,3	40,0	35,6	55,0
IV. Jeltozem faiblement podzoliqué, moyennement limoneux, kolkhoze „Avrora", Lenkoran RSS d'Azerbaïdjan	25–35	3,7	16,0	17,5	30,0	14,1	35,8

TABLEAU V

Comparaisons entre les quantités du phosphore mobile dans différents extraits acétiques de sols (2 g de sol et 50 ml de solution). Resultats exprimes en mg P_2O_5 par 100 de sol.

Sols	Prof. en cm	Phosphore trouvé dans l'extrait: CH_3COOH 0,5 *N* pH = 2,5	CH_3COOH 0,5 *N* + 1% 8-hydroxy-quinoléine pH = 3,5	Acide sélénieux (H_2SeO_3) 0,5% pH = 2,5	Acide citrique 1% pH = 2,3
I. Tchernozem épais limoneux lourd. Non fertilisé (Koursk)	0–20	8,1	9,7	10,9	23,8
II. Même sol fertilisé par phosphate	0–20	13,2	15,6	14,4	27,5
III. Sol dernovo-podzolique, moyennement limoneux. Stat. expér. agrochimique de Dolgoproudny, rég. de Moscou	0–20	4,7	9,6	14,4	21,9
IV. Sol dernovo-podzolique, limoneux léger. Non fertilisé. (Kolkhoze „Koloss", rég. de Moscou	0–20	9,4	—	16,2	26,2
V. Même sol fertilisé par superphosphate	0–20	19,4	—	23,8	37,4
VI. Sol. dernovo-podzolique, sablonneux. Champ d'essai de Lioubertsi, rég. de Moscou	0–20	6,7	9,5	21,6	24,4
VII. Forestier gris sol. (Stat. exp. de sélect. d'Ouzounovo, rég. de Moscou)	0–20	4,1	6,6	10,6	14,4
VIII. Sol forestier gris foncé, fortement fertilisé. (Stat. exp. de Novosil, rég. de Toula)	0–20	33,0	35,6	42,5	51,5
IX. Krasnozem non fertilisé d'Anaséouli (Instit. du thé et cultures subtrop.)	0–20	0,6	0,9	2.1	1,8
X. Même sol trois fois fertilisé par 960 kg/ha P_2O_5 de superphosphate	0–15	12.2	—	36,0	47,5
XI. Sol jeltozem fortement podzolisé (Lenkoran, RSS d'Azerbaïdjan)	0–15	0,6	1,6	5,6	4,1
XII. Même sol, faiblement podzolisé	18–23	28,8	29,0	33,8	66,0
XIII. Sol brun clair, faiblement gleyeux (Bénédikovtsi, rég.subcarpathique	0–10	1,9	3,3	8,0	5,7
XIV. Même sol	20–25	0,6	1,3	6,0	3,0
XV. Sol brun clair, à gley, sur croûte d'aéltration rougeâtre (Véliki Rakovetz, rég. subcarpathique)	0–10	1,2	1,8	6,0	3,4
XVI. Même sol	25–30	Tr.	1,6	8,9	3,8
XVII. Rougeâtre (rég. subcarpathique)	0–5	1,7	2,8	7,8	4,5
XVIII. Le méme	20–25	Tr.	0,9	3,6	1,9
XIX. Sol de prairie à horizons épais (terrasses de la rivière Latoritsa, Moukatchevo, rég. subcarpathique)	0–10	10,9	11,9	5,5	21,8
XX. Même sol	25–30	7,2	8,5	4,2	18,7

2) L'addition à l'acide acétique de la solution 8-hydroxyquinoléine à 1% ou de „cationite" (K–Ou–1) augmente la quantité de phosphore dans l'extrait en comparaison avec l'acide acétique seul.

3) Par rapport à l'extrait acétique, la quantité de phosphore obtenue dans l'extrait sélénieux est encore plus élevé (sauf pour le sol épais des prairies de la région subcarpathique).

4) La plus grande quantité de phosphore a été trouvée dans l'extrait acide citrique des sols. Dans le krasnozem de la région subcarpathique la quantité de phosphore dans l'extrait sélénieux s'est avérée plus grande que dans l'extrait citrique.

5) L'emploi d'un mélange d'acide acétique avec 8-hydroxyquinoléine ou d'acide sélénieux seul n'a pas augmenté la quantité de phosphore dans l'extrait de tchernozem et de jeltozem faiblement podzolique, ce qui était évidement lié à une moindre activité des sesquioxydes dans ces sols.

6) La comparaison des résultats de la détermination des phosphates mobiles du sol à l'aide de différents extraits faiblement acides montre la difficulté d'une mise au point d'une méthode universelle applicable à tous les cas. Pour le choix de telle ou telle méthode on doit tenir compte des particularités de l'interaction des différents sols avec différents acides faibles, ce qui est quelque peu éclairci par les données expérimentales examinées.

Dans le but de vérifier dans quelle mesure l'acide sélénieux, le mélange d'acide acétique et de 8-hydroxyquinoléine et l'acide citrique abaissent la fixation du phosphore par le sol, on a effectué au laboratoire l'expérience suivante.

On a enrichi en phosphore une serie d'echantillons de 4 sols différents en les humectant avec des solutions de phosphate monocalcique (50 mg de P_2O_5 pour 100 gr de sol, et dans les cas du krasnozem 50–150 mg P_2O_5 pour 100 gr); puis en les séchant. Aprés quoi, on a effectue des extractions par les divers reactifs acides. Les résultats de la determination du phosphore dans les extraits figurent au Tableau VI.

Les résultats obtenus indiquent que tous les sols étudiés ont, dans les conditions expérimentales, fixé à un degré considérable le phosphore ajouté (voir au Tableau VI les données sur les extraits hydriques). Les calculs correspondants montrent que l'acide acétique 0,5 *N* a extrait dans ce cas à partir de différents sols jusqu'à 10 à 20%, et à partir du seul tchernozem environ 50% de phosphore

ajouté. Les mélanges d'acide acétique 0.5 *N* et 1% de 8-hydroxyquinoléine, d'acide acetique et d'acide sélénieux à 0,5% ont extrait à partir du krasnozem 7 à 12%, et pour les autres sols jusqu'à 50 à 60% du phosphore ajouté. Enfin les plus grandes quantités de phosphore ont été trouvées dans les extraits citriques (pour le krasnozem environ 20%, et pour les autres sols de 65 à 85% de la quantité du phosphore préalablement ajoutée aux sols.

TABLEAU VI

omparaisons entre les résultats des extractions acides de sols, préalablement enrichis en phosphore ar traitement par des solutions de phosphore monocalcique. 2,5 g de sol + 50 ml de solution 'extraction (1 heure d'agitation et 24 heures de repos)

Sols	P_2O_5 ajouté préalablement par 100 g de sol	Extrait dans la solution en mg P_2O_5 par 100 g de sol, à l'exception du phosphore des sols non fertilisés				
		H_2O	CH_3COOH 0,5 *N*	CH_3COOH 0,5 *N* + 1% 8-hydroxyquinoléine	0,5% acide sélénieux (H_2SeO_3)	1% acide citrique
snozem d'Anaséouli (Inst. du the es cultures subtrop.). Horizon 0–15	150	2,8	8,4	22,1	24,8	54,2
ne sol	50	—	1,2	3,6	5,6	10,2
de prairie à horizon épais (rég. arpathique) Horizon 25–30 . .	50	7,2	5,1	19,1	24,5	34,2
dernovo-podzolique, moyennement neux. Stat. exper. agrochimique Dolgoproudny, rég. de Moscou. izon 0–20	50	5,0	11,3	25,4	25,6	42,1
ernozem épais, limoneux lourd. . expér. d'amélioration de la zone Koursk. Horizon 0–20	50	11,1	23,9	30,3	29,1	39,2

Les résultats de cette expérience montrent en quelle mesure la détermination de la solubilité du phosphore ajouté aux différents sols dépend de l'emploi de la méthode de détermination du phosphore mobile.

Si l'on tient compte qu'à l'aide d'extrait citrique on extrait des sols acides aussi bien des phosphates facilement assimilables que ceux difficilement assimilables par les plantes, il faut alors supposer que les résultats des extraits citriques donnent dans le nombreux cas une conception exagérée de la fertilité de ces sols en ce qui concerne le phosphore, mais qu'au contraire les extraits acétiques peuvent indiquer des valeurs trop faibles en raison de la

fixation secondaire du phosphore au cours du processus de son extraction.

Pour baser l'emploi des divers solvants pour la détermination du phosphore mobile dans différents sols, il était intéressant d'étudier la nature de l'action des acides faibles et diluées sur les phosphates minéraux et organiques pouvant se trouver dans le sol.

C'est pourquoi on a entrepris des recherches ultérieures qui avaient pour but d'étudier la solubilité dans les solutions d'acides faibles et diluées des phosphates de calcium de basicité différente, et de sesquioxydes et celle d'une série de préparations de phosphate organiques.

TABLEAU VII

Compositionch imique des préparations phosphatées employées dans les expériments laboratoires (en % pour 100 g de substance)

Nos des préparations	Préparations	Résultats d'analyses			Rapport $\frac{CaO}{P_2O_5}$ ou $\frac{R_2O_3}{P_2O_5}$	
		CaO ou R_2O_3	P_2O_5	H_2O ou F	Trouvé	Calculé théoriquement
2	Phosphate bicalcique hydrique . .	26,8	41,9	—	0,64	0,79
48	Phosphate tricalcique (préparation Kazakov)	49,7	43,6	6,1	1,14	1,18
—	Phosphate tricalcique préparation synthétique de l'I.E.I.*s	55,7	45,6	—	1,18	1,18
	Phosphate tetracalcique	61,2	38,9	—	1,58	1,58
7	Hydroxylapatite (produit sous marque ,,Phosphate tricalcique'') . . .	49,9	37,6	5,9	1,33	1,32
—	Hydroxylapatite (synthétique) prépar. l'I.E.I., structure de hydroxylapatite, composition chimique du phosphate tétracalcique	61,2	38,9	—	1,58	1,58
148–149	Fluoroapatite synthétique (prépar. Kazakov avec teneur élevée de fluor.).	49,2	36,9	4,8(F)	1,33	1,32
	Le même (prépar. I.E.I.*)	55,7	42,4	3,8(F)	1,31	1,32
	Fluoroapatite naturel (de Khibines)	55,13	40,1	3,2(F)	1,37	1,32
	Phosphate d'aluminium (moyen) . .	28,2	33,6	32	0,84	0,72
	Phosphate d'aluminium (basique) .	39,2	16,2	30	2,42	—
	Phosphate de fer (moyen)	36,8	31,4	30	1,17	1,13
	Phosphate de fer (basique)	58,2	16,1	26	3,62	—
	Vivianite $Fe_3(PO_4)_2$.	55,0	21,6	—	2,55	1,53
	Phosphate de manganèse ($Mn_3(PO_4)_2$)	44,5 (MnO)	36,1	—	1,23	1,5

* I.E.I. — Institut d'engrais et d'insectofongicides.

La composition chimique des phosphates minéraux employés dans les expériences est présentée au Tableau VII.

Dans la plupart des préparations on a trouvé des rapports $CaO : P_2O_5$ ou $R_2O_3 : P_2O_5$ voisins des rapports théoriques. La petite différence constatée pour le phosphate d'aluminium moyen ($Al_2O_3 : P_2O_5 = 0,84$ au lieu de 0,72) montre que cette préparation était basique, celle constatée pour le phosphate de manganèse ($MnO : P_2O_5 = 1,23$ au lieu de 1,5) montre que la préparation était plus acide. Dans le cas de la variante le rapport $FeO : P_2O_5 = 2,55$ au lieu de 1,53.

Brève description de la méthode de préparation des phosphates minéraux:

Les préparations synthétiques de phosphate tricalcique α et fluorapatite aux 1/2 et 1/3 précipités de solutions non concentrées de sels de phosphore, de calcium et de fluore, pris dans la collection du professeur Blazejevitch [12] sont en ce qui concerne leur teneur en CaO et P_2O_5 proches des valeurs calculées théoriquement.

La préparation n° 1 d'hydroxylapatite porte la marque „Phosphate tricalcique" non pas uniquement par le verrerie mais par des rapports de $CaO : P_2O_5$, elle correspond à l'hydroxylapatite (voir Askinazi [1], p. 59).

Les quatre préparations synthétiques phosphate tricalcique, hydroxylapatite par la structure et phosphate tetracalcique par la composition chimique phosphate tétracalcique par la structure et la composition chimique, et fluorapatite, ont été préparées dans les laboratoires de l'académicien B. I. Wolfkovitch à l'Institut scientifique des engrais et des insectofongicides (I. S. I.) et mises à notre disposition par V. V. Illarionov.

Ces préparations ont été obtenues de la façon suivante: dans un sel chimiquement pur de phosphate monocalcique on a ajouté CaO chimiquement pur en amenant le sel jusqu'à $Ca_3(PO_4)_2$. Par chauffage jusqu'à 900° on a obtenu β-$Ca_3(PO_4)_2$ qui porté à température plus haute se transforme en α-$Ca_3(PO_4)_2$.

Les fluorapatites, hydroxylapatite et phosphate tétracalcique ont été synthétisés à partir du β-$Ca_3(PO_4)_2$ mélangé en quantités voulues à CaO ou à CaF_2 et chauffé à 1300° C (apatites) et 1400° C (phosphate tétracalcique). Les conditions adoptées pour la préparation correspondent aux recherches de Trombe et Foex [24].

Les phosphates de fer et d'aluminium, mis à notre disposition, ont été préparés par Kheifetz [13] par précipitation à partir des solutions de sels; ce sont:

a) les phosphates moyens lors d'un rapport dans la solution $R_2O_3 : P_2O_5 = 1 : 1$ les préparations obtenues par leur composition chimique se sont approchées de la formule RPO_4);

b) les phosphates basiques lors d'un rapport dans la solution $R_2O_3 : P_2O_5 = 3 : 1$ les dépôts obtenus contenaient un excédent considérable de sesquioxydes en comparaison avec la formule RPO_4).

TABLEAU VIII

Données comparatives sur le passage en solution du phosphore des préparations de phosphates inorganiques par action de l'eau ou des solutions acides. Poids des préparations phosphatées: 9 mg P_2O_5 pour 25 ml de solution.

Noms des préparations	P_2O_5 global en %	Extrait en mg P_2O_5 du poids initial					
		Eau	Mélange acétate tampon solution Morgan pH=4,8	CH_3COOH 0,5 *N* pH=2,5	CH_3COOH 0,5 *N* + 1% 8-hydroxyquinoléine pH=3,7	0,5% acide sélénieux pH=2,5	1% acide citrique pH=
Phosphate dicalcique .	41,9	1,7	8,5	8,7	8,8	8,3	8,7
Phosphate tricalcique (préparation Kazakov)	43,6	0,9	8,5	8,5	8,5	8,7	8,5
Phosphate tricalcique (préparation I.E.I.*) .	45,6	0,02	7,5	8,5	7,0	7,8	7,8
Phosphate tetracalcique par structure et composition chimique (préparation I.E.I.)	38,9	0,3	0,2	8,7	7,5	9,0	9,3
Hydroxylapatite par la composition chimique (réactif Verrein „Phosphate tricalcique") . .	37,6	0,2	8,7	8,5	9,0	8,5	9,0
Hydroxylapatite par la structure, et phosphate tetracalcique par la composition chimique (préparation I.E.I.*) . . .	38,9	manque	0,83	6,1	4,5	5,0	6,8
Fluoroapatite synthétique (préparation Kazakov	36,9	0,01	5,6	8,4	9,0	5,0	9,0
Le même (préparation I.E.I.)	42,4	manque	0,19	4,6	3,0	4,5	4,5
Fluoroapatite naturel (de Khibines)	40,1	0,02	0,15	1,8	0,53	1,3	3,5
Phosphate d'aluminium (moyen)	33,6	0,4	0,6	5,0	4,9	7,0	9,5
Le même, basique . . .	16,2	manque	0,1	2,2	1,8	2,5	7,5
Phosphate de fer acide (moyen)	31,4	0,2	0,3	0,3	5,5	1,2	8,6
Le même, basique . .	16,1	manque	0,1	0,04	2,4	0,4	3,9
Phosphate naturel de fer (vivianite)	21,1	0,04	0,4	0,5	6,3	0,3	9,0
Phosphate de manganèse	35,9	3,3	7,5	8,8	9,0	5,0	9,0

* I.E.I. — Institut d'engrais et de'insectofongicides.

Le Tableau VIII présente les resultats concernant la solubilité des phosphates minéraux étudiés dans ces extraits faiblement acides. Elles permettent de tirer les conclusions suivantes:

1) Dans les extraits acétiques étudiés le phosphore de phosphates de calcium de basicité différente, la fluoroapatite naturelle excepté, passe pratiquement complètement dans la solution (4/5 et plus).

2) Dans le mélange tampon acétatique seuls les phosphates di- et tricalciques se sont dissous complètement, ce qui doit être utilisé pour l'étude des méthodes d'extraction de ce groupe de phosphates, particulièrement pour les sols à réaction à peu près neutre.

3) Dans les acides acétiques et sélénieux il y a eu passage des quantités suivantes de phosphore:

a) phosphate moyen d'aluminium jusqu'à 70%; phosphate basique d'aluminium jusqu'à 30%.

b) phosphate moyen de fer jusqu'à 15%; phosphate basique de fer jusqu'à 5%.

4) Dans le mélange acide et 8-hydroxyquinoléine et dans l'extrait acide citrique il y a eu passage de grandes quantités de phosphore des phosphates basiques de fer (60 à 90%).

Par conséquent, pour évaluer l'importance de certains extraits dans la détermination du phosphore mobile du sol, il faut tenir compte que pour les sols avec réaction acide, l'extrait par le tampon acetique peut donner une représentation incomplète sur le phosphore du sol accessible aux plantes (dans cet extrait, il ne passe dans la solution que du phosphore des phosphates di- et tricalciques).

Quand on utilise un mélange d'acide acétique et de 8-hydroxyquinoléine, ou une solution d'acide citrique, il passe dans la solution du phosphore des phosphates hautement basiques des sesquioxydes difficilement accessibles aux plantes, ce qui peut donner des représentations excessives sur le phosphore du sol accessible aux plantes.

Dans les conditions de l'expérience, on trouve dans les extraits acétiques et sélénieux une proportion considérable du phosphore des échantillons de phosphates de calcium (sauf de l'apatite) et des quantités de phosphore peu importantes, du phosphore provenant de phosphates assez basiques de fer et d'aluminium, ce qui peut servir de base pour l'emploi de ces extraits pour la détermination du phosphore mobile du sol. Cependent, comme nous l'avons déjà noté plus haut, lors de la préparation d'extraits acétiques de sols à réaction acide, il passe dans la solution une quantité

moindre de phosphore en comparaison avec l'extrait acide sélénieux. Ce fait est évidemment lié à une fixation secondaire du phosphore lors de la préparation d'extraits acétiques de ces sols.

Sur la base de ce qui vient d'être exposé, on peut supposer que l'emploi d'extraits à l'acide sélénieux pour des sols à forte réaction acide (krasnozem et autres sols) est plus rationnel que l'emploi d'extraits citriques et acétiques.

Nous disposons de quelques données comparatives sur le passage, en solution dans l'eau et les acides des combinaisons du phosphore organiques qu'ont peut trouver dans le sol; ces résultats sont représentés au Tableau IX.

TABLEAU IX

Données comparatives sur le passage dans la solution du phosphore des préparations de phosphates organiques, après séjour dans l'eau ou dans des acides dilués. Poids 0,5 g et 50 ml de solution d'extraction *.

Préparations	Teneur* globale P_2O_5 %	Passé dans l'extrait en % de la teneur globale P_2O_5					
		Eau	Mélange acétate solution Morgan pH=4,8	CH_3COOH 0,5 *N* pH=2,5	CH_3COOH + 1% 8-hydroxyquinoléine pH=3,5	0,5% H_2SeO_3 pH=2,5	1% acide citrique pH=2,3
Phytine	44,0	13,6	93,2	84,1	70,4	86,3	97,9
Glycérophosphate de calcium	35,0	97,1	94,2	100,0	91,4	91,4	91,4
Acide nucléique de levure	18,0	85,5**	97,2	82,8**	–	86,1	—

* La détermination de la teneur globale en phosphore, et du phosphore dans les différents extraits de préparations organiques, a été obtenue par la méthode colorimétrique après oxydation préalable à l'acide perchlorique.

** Ces données ont été mises à notre disposition par D. M. Kheifetz.

La préparation d'acide nucléique a été transmise par le professeur A. N. Bélozerski (Univ. de Moscou).

Les résultats obtenus après l'analyse (voir Tableau IX) montrent que le phosphore se dégage facilement des préparations étudiées des phosphates organiques (phytine, glycérophosphate de calcium et acide nucléique), et passe dans une mesure importante non seulement dans les acides dilués, mais aussi dans l'extrait hydrique (sauf phytine). Il est nécessaire de compter avec cette faible stabilité des préparations étudiées de phosphates organiques. Cependant on doit avoir en vue que les données obtenues peuvent avoir une

importance limitée, car dans les conditions du sol ces phosphates organiques ne sont évidemment pas à l'état libre et ont une forme plus stable dans les composés de particules colloïdales argileuses ou avec les sesquioxydes (par exemple, dans les conditions d'un milieu acide sous forme de phytates de fer ou d'aluminium).

RECHERCHES COMPLÉMENTAIRES

Comme on le sait, pour déterminer le phosphore du sol, on a proposé de nombreuses variantes de la méthode des extraits acétiques, dans lesquelles au lieu d'acide acétique dilué (0,1—0,5 *N* et autres concentrations) on emploie différents mélanges-tampons d'acide acétique avec des sels de sodium. Il y avait intérêt à déterminer l'aptitude des mélanges tampons acetiques a faire passer dans la solution le phosphore des phosphates de calcium, d'aluminium et de fer de différentes basicités et aussi le phosphore de différents types de sols.

Dans ce but les solutions suivantes ont été employées dans l'expérience:

1) Solution CH_3COOH 0,1 *N* avec pH = 2,8;
2) Mélanges tampons acétiques, à pH initiale = 3,7; 4,6; 5,5; 6,2;
3) Solution CH_3COONa avec pH voisin de 8 .

Pour la marche de la préparation des extraits des préparations phosphatées et des sols voir plus haut.

Les résultats obtenus sont représentés au Tableau X et XI.

Les données de ce tableau montrent que CH_3COOH 0,1 *N* fait passer presque entierement dans la solution le phosphore du phosphate bicalcique et α-tricalcique et seulement une partie peu considérable d'hydroxylapatite et du phosphate β-tricalcique. Lors de l'augmentation de la réaction initiale de la solution tampon acétique dépassant pH 5 la quantité de phosphore passant dans la solution diminue abruptement (v. Tabl. VI et VIII).

La quantité de phosphore du phosphate moyen d'aluminium passant dans la solution est considérablement moindre (jusqu'a 50%); la quantité de phosphore découverte dans les extraits acétiques de préparations de phosphate d'aluminium basique et particulierement de phosphate de fer moyen est encore plus basse. Quand la réaction initiale de la solution d'extraction s'accroit, la quantité du phosphore diminue considérablement.

De l'examen des données du Tableau X on peut conclure de la possibilité de l'emploi, en plus des solutions acides acétiques 0,5 *N* et 0,1 *N* (pH —2,5 et 2,7), des mélanges tampons acétiques de pH —3,8 et 4,8 pour le passage dans la solution non seulement du phosphore bicalcique très accessible aux plantes, mais aussi du phosphore des phosphates α-tricalcique. Beaucoup moins de phosphore passe en solution, dans ces conditions, du phosphore β-tricalcique et des phosphates d'aluminium moyens.

TABLEAU X

Le passage dans la solution du phosphore des préparations phosphatées dans les mélanges tampons acétiques avec différents pH. Poids 9 mg P_2O_5 + 25 ml solution.

Préparations	Mg P_2O_5 passés dans la solution						
	CH_3COOH						CH_3COONa
	0,5 *N* pH—2,5	0,1 *N* pH—2,7	pH—3,8	pH—4,7	pH—5,7	pH—6,4	0,1 *N* PH—7,9
Phosphate dicalcique . . .	9,0	8,9	8,0	7,4	3,6	2,0	1,2
Phosphate tricalcique . .	9,0	8,9	8,0	7,8	4,0	2,0	1,2
α-Phosphate tricalcique . .	8,0	8,0	8,0	8,0	4,0	1,0	0,6
β-Phosphate tricalcique . .	2,0	1,7	1,8	1,7	1,5	<0,1	manque
Hydroxylapatite*	7,5	2,5	1,3	1,0	0,7	0,1	traces
$AlPO_4$ (1 : 1)	4,0	1,5	0,7	0,4	0,3	0,3	0,3
$AlPO_4$ (3 : 1)	0,3	0,2	<0,1	<0,1	<0,1	manque	manque
$FePO_4$ (1 : 1)	0,3	0,2	<0,2	<0,1	<0,1	manque	manque

* Structure d'hydroxylapatite, composition chimique du phosphate tetracalcique.

A l'aide d'autres mélanges tampons acétiques ayant un pH initial plus élevé dans les conditions de l'expérience il a été pratiquement impossible de faire passer du phosphore dans la solution.

Les résultats obtenus ont un intéret déterminé pour baser l'emploi de différents mélanges tampons acétiques pour la détermination de la teneur en certains groupes et formes de phosphore du sol; et parmi eux ceux qui sont mobiles et accessibles aux plantes.

Dans des expériences ultérieures on a comparé également la quantité relative du phosphore mobile extrait de différents sols a l'aide de l'acide acétique et des mélanges tampons acétiques de réactions différentes. Les résultats obtenus sont représentés au Tableau XI et donnent des bases pour une recommandation préliminaire du choix de la variante des mélanges tampons acétiques pour la détermination du phosphore mobile dans différents terrains.

1. Pour le tchernozem et le sol forestier gris et le jeltozem

faiblement podzolisé – mélanges tampons acétique avec pH voisin 3 à 4.

TABLEAU XI

Taux du phosphore mobile dans les sols* en fonction du pH de la solution d'extraction. Poids du sol 2 g + 50 ml solution. Resultats en mg P_2O_5 par 100 g de sol.

Sols	Passage du phosphore dans différents extraits acétiques:						
	CH_3COOH						CH_3COONa
	0,5 *N* pH—2,5	0,1 *N* pH—2,7	pH—3,8	pH—4,8	pH—5,7	pH—6,4	0,1 *N* pH—8
hernozem épais limoux argileux lourd Stat. pér. d'amend. de zone de rég. de Koursk. Prélev. 2	7,0	5,9	4,5	2,6	0,8	0,7	0,5
hernozem carbonaté préucasien (rég. de Rostov). élev. 2715	9,5	5,9	4,5	1,2	0,7	0,5	0,2
l forestier gris. Stat. de ection d'Ouzounovo, reg. Moscou	9,0	8,5	8,0	4,0	1,0	1,0	1,0
l podzolique, moyennent limoneux. Stat. expér. rochimique de Dolgoudny, rég de Moscou .	4,0	2,6	1,3	0,5	0,5	0,4	Traces
ltozem faiblement podlisé (Lenkoran, R.S.S. Azerbaïdjan)	7,5	2,5	1,2	1,0	0,6	0,6	0,6
rasnozem trois fois fertié par 480 kg/ha P_2O_5 sous rme de superphosphate, Ahaséouli (Inst. du thé et s cultures subtrop.) . .	2,2	1,4	0,8	0,4	0,2	0,1	0,2

Horizon de labour.

2. Pour le sol podzolique – mélange tampon acétique avec pH près de 2,5. Dans le cas de sols podzoliques ayant une acidité d'échange élevée (près de 2 mg équiv. par 100 g de sol) on observe, lors d'un tel pH équilibré (près de 2 – 3), une fixation secondaire du phosphore ayant passé en solution au commencement de la réaction. Ici on recommande d'employer des extraits sélenieux du sol.

3. Pour le krasnozem – les extraits acétiques ne sont pas à appliquer.

Il est nécessaire de continuer les expériences pour préciser l'applicabilité de tel ou autre extrait pour les differents type de sols.

CONCLUSIONS

1. Sur la base des données expérimentales sur l'influence de la durée du contact entre différents sols et solutions d'acides faibles et diluées sur la quantité de phosphore extrait, on peut recommander d'agiter sur agitateur rotatoire pendant une heure l'échantillon de sol avec l'acide, puis de laisser en contact le sol et la solution pendant 24 heures.

2. Une fixation secondaire du phosphore se produit au cours de la préparation des extraits acétiques, particulièrement pour les sols à réaction acide.

3. L'emploi d'un mélange d'acide acétique avec 8-hydroxyquinoléine à 1% dans le but de diminuer la fixation secondaire du phosphore par le sol ou l'emploi d'acide citrique à 1% doit être considéré comme insuffisamment fondé pour la détermination du phosphore mobile dans tous les sols à réaction acide, car dans de nombreux cas des phosphates de fer très basiques et difficilement accessibles aux plantes passent dans ces extraits .

4. Le mélange proposé par Cooke (CH_3COOH 0,5 N + H_2SeO_3 0,5%) pour diminuer la fixation secondaire du phosphore ne tient pas assez compte du rôle de l'acide sélénieux qui dissout les phosphates minéraux du sol dans la même mesure que l'acide acétique.

C'est pourquoi pour la détermination du phosphore mobile dans les sols le mélange proposé par Cooke peut être remplacé par l'acide sélénieux seul.

5. Dans les sols à réaction acide, l'acide sélénieux diminue la fixation secondaire du phosphore par le sol et peut donner une caractéristique plus satisfaisante des phosphates mobiles du sol que de l'acide acétique.

6. Il est nécessaire de continuer de recherches pour expliquer l'application de différents acides diluées pour l'extraction de phosphates mobiles de divers types de sols.

Reçu le 5e octobre, 1956.

BIBLIOGRAPHIE

1 Askinazi, D. L., Régime des phosphates et du chaulage des sols à réaction acide. Ed. Acad. Sci. U.R.S.S., Moscou–Léningrad (1949).

2 Bogdan, E. V., Expérience de l'emploi de l'isotope P^{32} pour la caractéristique des méthodes d'extraction des formes ,,mobiles'' des phosphates du sol''. Izvestia Acad. Sci. U.R.S.S., série biol. **5** (1953).

3 Bogdanov, S. M., Les sols fertiles en général, et les sols russes en particulier. S.-Pétersbourg (1897).

4 Bogdanov, S. M., Les sols fertiles d'après de nouvelles données. S.-Petersbourg (1906)

5 Cooke, G. W., Fixation of phosphate during the acid extraction of soils. J. Soil Sci. **2**, 254–262 (1951).

6 Davtian, G.S., Sur la question de la répartition des principaux groupes de phosphates du sol. Problémy soviétskogo potchvovédénia **7**. Ed. Acad. Sci. U.R.S.S. (1939).

7 Davtian, D. S., Régime des phosphates des sols de l'Arménie. Ed. Acad. Sci. R.S.S. d'Arménie (1946).

8 Ghani, M. O., The use of 8-hydroxyquinoline as a means of blocking active iron and aliminium in the determination of available phosphoric acid by dilute extractions. Indian J. Agr. Sci. XIII, 562–565 (1943).

9 Ghani, M. O. et Islam, M. A., Phosphate fixation in acid soils and its mecanism. Soil Sci. **62**, 293–306, (1946).

10 Guédroitz, K. K., Méthodes chimiques de détermination de la fertilité des sols par rapport à l'acide phosphorique. J. Agr. Expt. U.S.S.R. II, 345–368 (1901) et IV, 403–432 (1903).

11 Kariakine, I.V., Réactifs chimiques purs, p. 471. Goschimizdat (1947).

12 Kazakov, A. V., Nature chimique de la substance phosphorique des phosphorites et leur genèse. 1. Système $CaO—P_2O_5—H_2O$ dans les champs à faible concentration (synthèse du phosphate tricalcique et de l'hydroxylapatite). Trav. I.E.I. **139** (1937).

13 Kheifetz, D. M., Influence de la composition et de la structure des composés phosphates de fer et d'aluminium sur la croissance des plantes. Trav. I.E.I. **141**, 76–87 (1938).

14 Kheifetz, D. M., Méthodes de détermination du phosphore dans le sol. Dans: Methodes agrochimiques d'étude des sols. Ed. Acad. Sci. U.R.S.S., pp. 76 et 80 (1954).

15 Kostytchew, P. A., Insolubles combinaisons de phosphore dans les sols (1881)

16 Lemmermann, O. et Rauterberg, E., Das verschiedene Verhalten der Phosphorsäureverbindungen gegenüber 1%-iger Essigsäure, Z. Pflanzenernähr. Düng. u. Bodenk. **43** (88), 193–207 (1949).

17 Metzger, W. H., Phosphorus fixation in relation to the iron and aluminium of the soil. J. Am. Soc. Agron. **33**, 1093–1099 (1941).

18 Piper, C. S., Soil and plant analysis (1942).

19 Prianichnikov, D. N., Sur la question de l'extrait acétique. J. Agron.-exp., **2** (1904).

20 Schoen, Ulrich, Die Bindung von Anionen, besonders von Phosphat-Ionen an Tonen. Eine Übersicht. Z. Pflanzenernähr. Düng, u. Bodenk. **60** (105), 31–54 (1953).

21 Serdobolsky, I. P. et Siniaguina, M. O., Sur l'échange des phosphates absorbés du sol. Izvestia Acad. Sci. U.R.S.S., sér. biol. **3** (1954).

22 Tchirikov, P. V., Assimilation par les plantes de l'acide phosphorique des différentes formes des phosphates du sol. ,,Vestnik SKH naouki''. Engrais, agrotechnique et agropédologie, **3** (1941).

23 Tchirikov, P. V. et Volkova, V. V., Transformation de l'acide phosphorique des engrais phosphatés dans les principaux types de sols. Potchvovédénié **4** (1939).

24 Trombe, F. et Foex, M., Sur le traitement thermique des phosphates de calcium et des phosphates apatitiques naturels. Bull. Soc. chim. France **10**, 1282–1287 (1954).

25 Truog, E. et Meyer, The determination of available phosphorus in soils. J. Am. Soc. Agron. (1929).

26 Warrington (cité d'après Kostytchev), Les composés phosphatés insolubles du sol (1881).

27 Williams, Collin H. Studies of soil phosphorus I. A method for the partial fractionation of soil phosphorus; II. The nature of native and residual phosphorus in some south australian soils; III. Phosphorus fractionation as a fertility index in south australien soils. J. Agr. Sci. **40**, 233–242, 243–256 et 257–262 (1950).

28 Williams, E. G. et W. M. H. Sanders, Significance of particle-size fractions in readily soluble phosphorus extractions by the acetic, Truog, and lactate methods. J. Soil Sci. **7**, 189–202 (1956).

Plant and Soil IX, no 1 September 1957

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE GROWTH AND MINERAL COMPOSITION OF THE FOLIAGE OF JAPANESE LARCH

II. EVIDENCE FROM MANURIAL TRIALS

by L. LEYTON

Department of Forestry, University of Oxford

INTRODUCTION

In a previous paper (Leyton [6]), the application of multiple regression analysis was considered as an approach to the study of growth-nutrient relationships in trees under conditions of a deficient supply of more than one nutrient. Attention was drawn to the existence of a highly significant multiple correlation between the heights of young even-aged Japanese larch trees growing on a heterogenous heathland site and the concentrations of nitrogen and potassium in the needle dry weights. It was deduced from this that, in so far as increasing concentrations of nitrogen and potassium in the needles were associated with increasing tree heights (within the limits set by the experimental material), the growth of the trees was limited by deficiencies in these nutrients, especially in nitrogen which made by far the greater contribution to the regression. Though much of the variation in height in this plantation could most probably be attributed to past random application of various fertilizers, insufficient evidence was available for the establishment of a direct causal relationship between growth and mineral nutrient availability. As will be seen a recent manurial trial provides confirmation, not only of the above conclusions, but also of the value of this approach to nutritional studies in general. Additional evidence has been obtained from a second manurial trial with this species in a different part of the country.

EXPERIMENT Ia

EXPERIMENTAL METHOD

In the spring of 1955, a plantation of young (8 years old) Japanese larch on a heathland site, similar to and within a short distance of that previously investigated (Hackness Moor, East Yorkshire), was treated with three levels of a nitrogenous fertilizer (0, 2, and 4 ounces of ammonium nitrate per tree) combined factorially with three levels of a potassic fertilizer (0, 2, and 4 ounces of potassium sulphate per tree). Each plot contained 12 trees of which two inner ones were taken at random for detailed investigation: – each treatment was replicated 6 times to give a total of 54 plots (108 trees). Late in the following September, growth responses were recorded in terms of height increment for the year and samples of needles taken from the uppermost lateral shoot of each tree for subsequent analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Data representing the mean values for each treatment are presented in Table I together with the corresponding standard error of the mean.

TABLE I

Hackness. Mean values per treatment for 1955 growing season.

Treatment	N_0			N_1			N_2			S.E. of
	K_0	K_1	K_2	K_0	K_1	K_2	K_0	K_1	K_2	mean
Ht. Incr. (cm) .	39	46	41	53	52	57	49	54	52	2.18
Needle Wt. (mg)	5.4	5.3	5.2	7.7	6.9	8.0	7.5	8.0	7.5	0.39
N % D. Wt. . .	1.97	2.20	2.06	2.29	2.06	2.33	2.98	2.69	2.87	0.11
P % D. Wt. . .	0.46	0.53	0.50	0.24	0.32	0.27	0.23	0.22	0.22	0.021
K % D. Wt. . .	0.93	1.32	1.38	0.83	1.24	1.21	0.84	1.09	1.10	0.055
N/P ratio . . .	4.6	4.3	4.2	10.2	7.2	8.4	13.2	12.1	13.6	0.77
N/K ratio . . .	2.3	1.7	1.6	2.9	1.7	2.0	3.5	2.5	2.7	0.18
K/P ratio . . .	2.1	2.6	2.8	3.6	4.2	4.6	3.7	4.9	5.2	0.21

All figures referred to below represent smoothed curves calculated from the linear and/or quadratic components of the corresponding regressions where these have proved to be significant (except where stated, at 5% level or better).

Height increment.

Figure 1A, representing the mean 1955 height increments for each treatment (after removing random errors due to site and sample heterogeneity) clearly illustrates the marked response to the nitro-

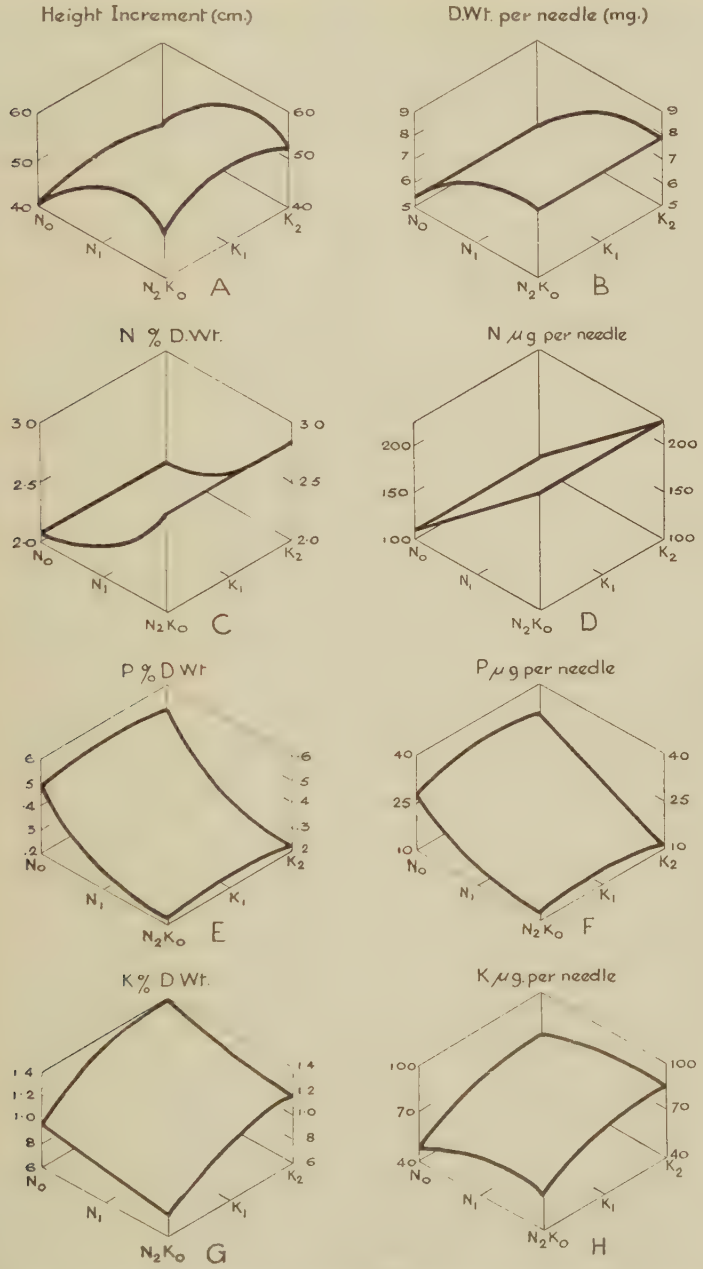


Fig. 1. Hackness. Influence of N and K manurial treatment on the growth and mineral composition of the foliage of Japanese larch. 1955.

genous fertilizer ($p \ll .01$) and a lesser response to the potassium fertilizer ($p < .1$); in the former case, growth increased to an optimum at a level slightly above the two ounce dosage and fell with further increase in nitrogen supply. No significant interaction between the two fertilizers could be established. It is also of interest to note (Fig. 1B) that the mean needle dry weight shows a similar response to increasing nitrogen supply but in this case, the response to potassium was not significant ($p > .05$).

Needle composition.

In figures 1C–1H, data are presented for the variations in the N, P and K status of the foliage, both in terms of % dry weight and as absolute contents per needle.

Nitrogen. At the higher levels of N supply, the N concentration in the needles increases very rapidly (1C); since the data indicate an essentially linear increase in the absolute N content of the needles (1 D), this rise is apparently due to the falling dry matter production in the needles at supra-optimal levels of supply. No significant influence of the potassium fertilizer on the N status of the needles could be established.

Phosphorus. With increasing N supply, the P concentration in the needles falls very rapidly to a level appreciably below that in the untreated specimens (1E). That this is not merely due to false antagonism as a result of varying needle dry weight production is shown by the very marked fall in the absolute P content of the foliage (1F). How far this applies to the tree as a whole is not known but, as far as the uppermost shoots at least are concerned, there is definite evidence for a direct antagonistic influence of the nitrogenous fertilizer on P uptake by the needles. The potassium fertilizer on the other hand seems to promote the uptake of P, though its effect is small compared with that of the nitrogenous fertilizer.

Potassium. Increasing the potassium supply increases both the concentration and absolute content of this nutrient in the foliage, the response in both cases corresponding to the well known curve of "diminishing returns" (1G, H). The fall in K concentration with increasing N supply is probably due to false antagonism since the absolute K content of the needles tends, if anything, to increase.

Calcium. Though not included in Figure 1, calcium determi-

nations have been made and reveal, as in the case of K, a significant fall in concentration (from about 0.32% to 0.22% dry weight) with increasing N supply: that this is again largely due to false antagonism is suggested by the absence of any corresponding fall in the absolute Ca contents of the needles.

The relationship between needle composition and tree growth.

Quantitative relationships between needle composition and tree growth (in this case height increment for 1955) may be determined from correlations or regressions based on total or residual variances *i.e.* from the data on height growth and needle composition before or after the effects of treatment and random site variations have been eliminated by a covariance analysis. In the former case even a significant regression provides no actual proof of a direct causal relationship between the two variables but since much of our information on growth nutrient relationships has been obtained in this way, this approach allows for comparisons with previous findings, including the earlier investigation on Japanese larch. On the other hand, since regressions based on residual variances provide information on relationships *independant* of treatment effects, they therefore allow for an interpretation of response directly in terms of these treatment effects. In the following analyses both approaches have been adopted.

Regressions based on total variances.

Tests of the multiple regression of height increment on a number of nutrient factors, N, P, K, Ca (in terms of their % concentration in the needle dry weight), their squares N^2, P^2, K^2 (to allow for possible curvilinear relations) and products *e.g.* N × K (to allow for possible interactions) suggest that only the factors N ($b = 49.3 \pm 12.1$), N^2 ($b = -8.7 \pm 2.29$) and K ($b = 7.6 \pm 3.0$) make significant contributions to the regression ($p < .05$). The expression,

$$49.3\,N - 8.7\,N^2 + 7.6\,K - 10.2$$

provides an estimate of height increment (cm) with a standard error of ± 8.1 cm and a multiple regression coefficient of $R = 0.461$ ($p < .01$).

Thus the earlier finding (Leyton [6]) that, on these sites, the growth of Japanese larch can be significantly related to the con-

centrations of N and K in the needles would appear to be confirmed; since the experiment also shows that these concentrations can be increased, over a certain range at least, by the application of the appropriate fertilizers, an interpretation of this relationship in terms of deficiencies in these nutrients (and especially in nitrogen) is also confirmed. At the same time it is of interest to note the existence of a curvilinear relationship with N concentration in contrast to the previously established linear relationship; in the material previously analyzed however, the N concentrations in the foliage were all below 2.9% (with few exceptions, below 2.5%) whereas, according to the above expression, maximum increment corresponds to a concentration of 2.85% N. From the nature of the curve relating growth to N concentration an essentially linear relationship below 2.5% N is therefore to be expected. It will also be noted that in the present investigation, only about 21% of the total variation in growth can be accounted for in terms of the N and K concentrations compared with the previous 80%; there are of course numerous other possible factors influencing height growth which have not been taken into account in the regression and particular attention is drawn to the very dry 1955 growing season which very probably limited the response of the trees in this year.

Attention has also been paid to possible relationships between height growth and the *balance* of nutrients in the foliage as reflected in the ratios N/P, N/K and K/P. Many previous investigators have stressed the importance of a balanced nutrition and have proposed optimum values for these ratios (cf. for example, van Goor [4], Prevot and Ollagnier [7], Beaufils [1]); it is therefore conceivable that the fall in growth at high N levels (cf. Figure 1A) may be associated with an adverse balance between nutrients.

Tests made on the regression of height increment on the variables N/P, N/K and K/P and their squares N^2/P^2, N^2/K^2 and K^2/P^2 do in fact reveal significant contributions by all these factors. In the case of N/P, the regression coefficients b. N/P $= 4.4 \pm .84$ and b. $N^2/P^2 = -0.175 \pm .041$ together with the significant K factor ($b = 14.4 \pm 3.0$) yield the expression

$$4.4\ N/P - 0.175\ N^2/P^2 + 14.4\ K + 11.5$$

which, over the range of N/P from about 3 to 18, provides an estimate of height increment with a standard error of $\pm$ 7.7 cm and

a multiple correlation coefficient of $R = 0.459$ ($p < .01$). According to this, maximum increment occurs at a ratio of N/P = 12.6, a value which agrees closely with the optimum ratio ($N/P_2O_5 = 4$ to 5) proposed by Van Goor [4] for Japanese larch seedlings grown in pot cultures and those of 12–15 found in Scots pine seedlings (Gast [3], Boszormenyi [2]), in rubber plants (Beaufils [1]) and in the oil palm (Prevot and Ollagnier [7]).

In the case of the ratios N K and K/P, the regression coefficients b. $N/K = 15.3 \pm 6.2$, b. $N^2/K^2 = -3.15 \pm 1.22$, b. $K/P = 11.2 \pm 3.5$ and b. $K^2/P^2 = -1.04 \pm .43$, yield the expression,

$$15.3\ N/K - 3.15\ N^2/K^2 + 11.2\ K/P - 1.04\ K^2/P^2 + 6.65$$

which, over an N/K range of 1–4 and a K/P range of 1.5–6.7, provides an estimate of height increment with a standard error of ± 7.9 cm and a multiple correlation coefficient of $R = 0.515$ ($p < .01$). According to this expression, maximum increment corresponds to N K = 2.4 and K P = 5.4; these are of the same order as the optimum values of 3.4 to 4.3 proposed by Beaufils [1] for rubber plants and those of 2.9 mentioned by Gast [3] for Scots pine seedlings (cf. also Prevot and Ollagnier [7]).

It is evident from the above calculations that, given the material at the end of the experiment, variations in height growth may be alternatively related either to the varying concentrations of N and K or, with somewhat similar precision, to the varying balance between N, P and K in the needles. There seems little doubt that since all the above factors are interrelated to a greater or lesser extent, the relationships established above represent alternative expressions of a possibly more fundamental relationship; whether the observed growth reponses can be interpreted *directly* in terms of the fertilizer amendments on these factors can only be decided from the corresponding regressions on residual variances.

Regression based on residual variances from a covariance analysis.

Tests on the various factors mentioned above reveal that only N ($b = 40.4 \pm 18.5$), N^2 ($b = -7.6 \pm 0.35$) and possibly K ($b = 11.4 \pm 6.25$) make significant contributions to the regression. The expression

$$40.4\ N - 7.6\ N^2 + 11.4\ K - 14.6$$

provides an estimate of height increment with a standard error of $\pm$ 7.3 cm and a multiple correlation coefficient of $R = 0.403$ ($p < .05$). This suggests that the observed height responses can be interpreted *directly* only in terms of the influence of the fertilizer admendments on the N and K concentrations in the needles and that the ratios N/P, N/K and K/P merely reflect in the final material, the relative changes in needle composition brought about by the treatment. Furthermore, the two expressions derived from total and residual regressions resemble each other very closely and it would seem therefore that this relationship, being relatively uninfluenced by treatment, is basic to the growth of the trees on this site.

EXPERIMENT Ib

According to the above analyses it would appear that height response bears little relationship to the P concentration in the foliage despite the significant reduction in this concentration brought about by the nitrogenous fertilizer and the resulting possibility that this might be directly responsible for the fall in growth at high nitrogen supplies. In order to confirm this an additional phosphate trial was set up in the spring of 1956: ground mineral phosphate was applied to the plantation at 0, 2 and 4 ounces per tree in such a way as to allow for the subsequent analyses of the response at the end of the growing season with respect to all three fertilizer treatments and the interactions between them.

RESULTS

Mean values for each treatment of 1956 height increment and P concentration in the current needles are summarized in Table II:

TABLE II

Hackness. Mean values per treatment for 1956 growing season												
		N_0	N_1	N_2		N_0	N_1	N_2		K_0	K_1	K_2
Ht. incr. (cm)	K_0	58	52	59	P_0	55	62	61	P_0	58	65	55
	K_1	57	57	66	P_1	55	56	61	P_1	57	59	56
	K_2	47	59	58	P_2	53	51	60	P_2	55	56	54
P% D.Wt.	K_0	.56	.51	.39	P_0	.53	.54	.34	P_0	.46	.51	.45
	K_1	.55	.55	.37	P_1	.56	.57	.39	P_1	.56	.49	.47
	K_2	.51	.55	.35	P_2	.53	.51	.39	P_2	.45	.48	.49

Although the influence of the N and K treatments was still to be seen in this second year (cf. Figure 2A) no positive response was obtained to the applied phosphate; there was instead, a suggestion ($p < .02$) that height growth decreased linearly from a mean of 59.2 cm at P_0 to 57.3 and 54.6 cm at the middle and higher dosages respectively. Nor was there any evidence of a significant change in P concentration in the needles with increasing P supply though the depressing influence of the nitrogen treatment was still very apparent (0.54% P at N_0 falling to 0.37% P at N_2).

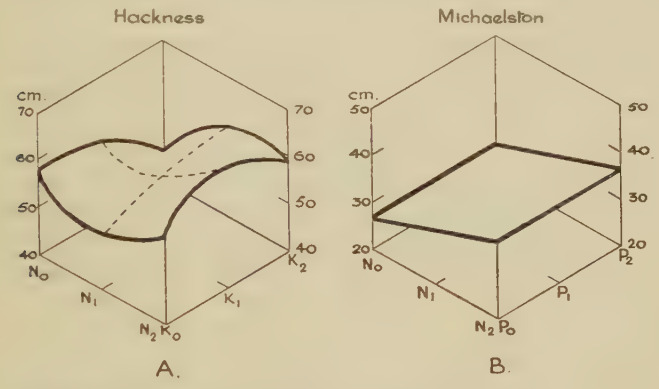


Fig. 2. Hackness and Michaelston. Influence of 1955 manurial treatments on height increment in 1956.

These findings confirm the conclusions based on the previous year's results that, as far as Japanese larch is concerned, these soils contain more than adequate supplies of phosphate. This is in marked contrast to many of the Dutch heath soils which, according to Van Goor [5]) are very deficient in this nutrient for the growth of this species: inspection of the soil analytical data (cf. Table III)

TABLE III

Soil analytical data						
	Hackness			Michaelston		
Depth	0–2″	2–4″	9″–	0–2″	2–4″	9″–
Total P_2O_5 (mg/100 g)	84	43	95	206	96	69
Total N (%)	0.49	0.13	0.064	0.63	0.30	0.11
* Available K (mg/100 g)	17	3.8	2.6	13.2	4.7	1.8
* Available Ca (mg/100 g)	6.8	4.9	2.4	12.0	4.1	2.6
pH-(water)	3.2	3.5	4.1	3.7	3.7	4.0

* Extracted in N Ammonium acetate.

shows that the total P_2O_5 content of the soil under investigation is far above the level below which a response to added phosphate might be expected (about 50–70 mg/100 g).

EXPERIMENT II

EXPERIMENTAL METHOD

In order to test the general applicability of the approach discussed above, a second manurial trial was set up in the spring of 1955 in a similarly aged Japanese larch plantation on a moorland site in South Wales (Michaelston forest). The soils in this area are derived from Pennant sandstone (coal measures) and the vegetation dominated by *Calluna vulgaris* and *Molinia caerulea:* data presented in Table III reveal a soil composition comparable with that of the Hackness site. In this experiment 3 levels of a nitrogenous fertilizer (0, 2, and 4 ounces of ammonium nitrate per plant) were combined factorially with 3 levels of phosphate fertilizer (0, 2, and 4 ounces of ground mineral phosphate per plant), each treatment being replicated 5 times to give a total of 45 plots from each of which two trees were sampled for determinations of growth and needle composition at the end of the growing season.

RESULTS

Mean values per treatment with the corresponding standard errors are summarized in Table IV: comparison of these with the Hackness data indicates a much poorer rate of growth in this plantation and appreciably more variability.

TABLE IV

Michaelston. Mean values per treatment for 1955 and 1956 growing seasons.

Treatment	N_0			N_1			N_2			S.E. of mean
	P_0	P_1	P_2	P_0	P_1	P_2	P_0	P_1	P_2	
1955										
Ht. incr. (cm). .	15	19	14	22	17	21	22	22	20	2.70
Needle Wt. (mg)	2.5	3.1	2.6	3.3	2.8	3.3	2.9	3.2	3.0	0.32
N % D. Wt. . .	2.40	2.24	2.16	2.45	2.36	2.26	2.55	2.50	2.47	0.11
P % D. Wt. . .	0.35	0.30	0.34	0.26	0.29	0.30	0.23	0.23	0.24	0.027
K % D. Wt. . .	0.68	0.60	0.63	0.58	0.53	0.54	0.52	0.57	0.54	0.051
N/P ratio . . .	7.4	8.0	6.5	8.0	8.9	8.1	11.9	11.1	12.0	1.11
N/K ratio . . .	3.7	3.9	3.5	4.3	4.5	4.3	5.0	4.5	4.7	0.33
K/P ratio . . .	2.0	2.1	1.9	2.5	2.0	2.0	2.4	2.6	2.2	0.26
1956										
Ht. incr. (cm). .	27	30	27	34	26	33	35	39	36	4.2

Height increment.

As shown in Figure 3A, there was a significant response to the nitrogenous fertilizer (diminishing returns) but no response to increasing phosphate supply and no evidence of an interaction between the two treatments: as illustrated in figure 2B, the response to the nitrogenous fertilizer was maintained in 1956.

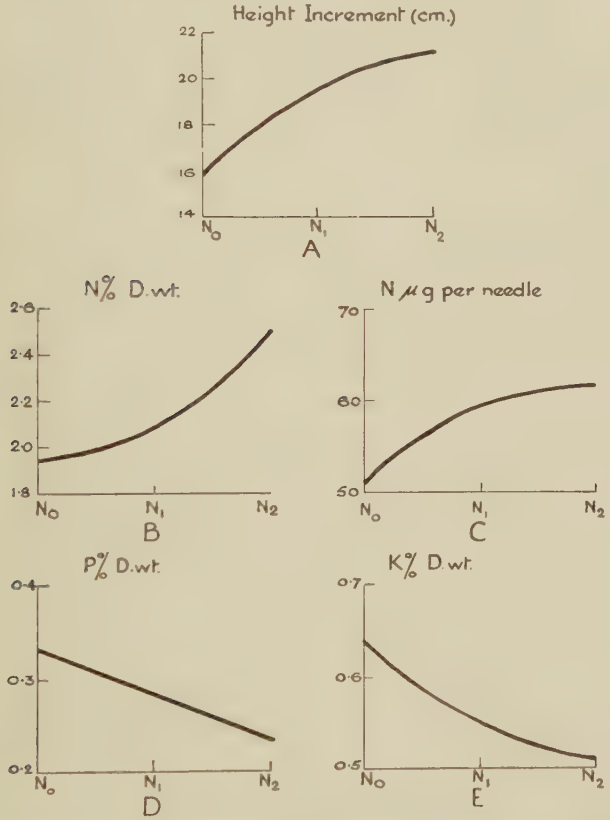


Fig. 3. Michaelston. Influence of N manurial treatments on the growth and mineral composition of the foliage of Japanese larch. 1955.

Needle composition.

In many respects the results (Figures 3B–E). were similar to those obtained in the Hackness trial described above. Increasing the N supply led to a rise in both the absolute and percentage N contents of the needles, in the latter case rising sharply at higher levels of

supply: these responses were accompanied by decreasing P and K concentrations in the needles. Increasing the P supply had little influence on the P concentration, nor were the concentrations of the other nutrients significantly affected. It will be noted that the range of P concentration in this material viz. 0.33 to 0.23% dry weight falls within the range found in the Hackness material which also showed no response to added phosphate and that the soil in this area has a comparable total P_2O_5 content (Table III).

The relationship between needle composition and tree growth.

As before, multiple regressions of height increment on needle composition have been calculated both in terms of total and residual variances.

Regressions based on total variances.

Despite the apparent correspondence between the curves for height increment and N concentration (Figures 3, A and B) no statistically significant correlation could be established between them. An examination of possible reasons for this discrepancy disclosed the fact that in this plantation height growth is closely related ($p < .05$) to the initial vigour of the trees as reflected in their growth in the year prior to the experiment and that this initial vigour varied appreciably but not systematically within the plantation. Hence height response in 1955 can be considered as a function of both initial vigour and treatment and analysis of the multiple regression on these factors now reveals a significant linear contribution by N ($b = 6.65 \pm 2.28$).

Alternatively however, actual height growth (disregarding the influence of initial vigour) can be expressed in terms of the nutrient ratios N/P, N/K and K/P. In the first case, the regression coefficients $b.\ N/P = 1.56 \pm .63$ and $b.\ N^2/P^2 = -0.053 \pm 0.02$ yield the expression

$$1.56\ N/P - 0.053\ N^2/P^2 + 10$$

which, over an N/P range of 4 to 15, provides an estimate of height increment with a standard error of $\pm$ 8.4 cm and a multiple correlation coefficient of $R = 0.273$ ($p < .05$). In the latter cases, the regression coefficients, $b.\ N/K = 1258 \pm 5.06$, $b.\ N^2/K^2 = -1.18 \pm 0.57$, $b.\ K/P = 10.45 \pm 5.59$ and $b.\ K^2/P^2 = -2.09 \pm 1.01$ yield the expression

$$12.58\ N/K - 1.18\ N^2/K^2 + 10.45\ K/P - 2.09\ K^2/P^2 - 24$$

which, over the ranges N/K from 3 to 7 and K/P from 1 to 4, provides an estimate of height increment with a standard error of $\pm$ 8.2 cm and a multiple correlation coefficient of $R = 0.382$ ($p < .01$).

Thus, more or less as in the Hackness trial, variations in height growth at the end of the year may be alternatively expressed either in terms of the nitrogen concentration (in this case after allowing for an influence of initial vigour) or in terms of the nutrient ratios N P, N K and K P. According to these latter expressions maximum growth corresponds to ratios of N/P = 14.7, N/K = 5.3 and K P = 2.5, again (especially in the case of N/P) of the same order as those previously calculated from the Hackness data.

Regressions based on residual variances.

In terms of concentration, height growth (disregarding the influences of initial vigour) appears to be related only to N and the resulting correlation coefficient, $R = 0.369$ ($p < .05$) suggests that the response to the nitrogenous fertilizer can be interpreted, at least partially, *directly* in terms of its influence on the N concentration in the needles.

In terms of nutrient ratios on the other hand there is some evidence that residual height variance can be related either to N P or N K variations. In the former case, the regression coefficients $b.\ N/P = 2.24 \pm 1.1$ and $b.\ N^2/P^2 = -0.065 \pm 0.033$ yield the expression

$$2.24\ N/P - 0.065\ N^2/P^2 + 4.0$$

which provides an estimate of residual increment with a standard error of $\pm$ 8.3 cm. and a multiple regression coefficient of $R = 0.368$ ($p < .05$): this suggests a maximum increment at N/P = 17.2, a value which is comparable with those established previously. In terms of N/K, the regression coefficients, $b.\ N/K = 13.3 \pm 6.5$ and $b.\ N^2/K^2 = -1.19 \pm 0.7$, yield the expression

$$13.3\ N/K - 1.19\ N^2/K^2 - 15$$

which provides an estimate of residual increment with a standard error of $\pm$ 7.9 cm and a multiple correlation coefficient of $R = 0.438$ ($p < .05$): according to this expression, maximum increment correponds to a ratio of N/K = 5.6, again comparable with previously established optimum values for this ratio.

In this trial therefore there appears to be some justification for interpreting the response to the nitrogenous fertilizer not only in terms of its influence on the N concentration but alternatively to the changes brought about in either the N/P or N/K balance. It will be noted also that the expressions involving nutrient ratios and derived from the residual regressions bear a close relationship to those derived from total variances *i.e.* that these relationships are relatively uninfluenced by treatment.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

In both trials, significant responses in height increment have been obtained to the application of a nitrogenous fertilizer: as far as the Hackness site is concerned, the results therefore confirm the previous theoretical deductions based on the relationship between height growth and needle composition for similar trees on a comparable site. According to the data derived from this trial, maximum growth is associated with an optimum N concentration of about 2.8% dry weight and it is of interest to note that in the Michaelston experiment, in which all the trees lay below this value, growth increased almost continuously (though at a diminishing rate) with increasing N supply and N concentration: moreover there is some suggestion (cf. Figures 2A, B) that maximum increment is reached at approximately the same optimum value though no significant curvilinear component of the relationship with concentration could be established. Inspection of the data of Van Goor [4] for Japanese larch seedlings grown with varying N and P supplies also suggests an optimum N concentration of this order.

At higher N concentrations the Hackness trial discloses a fall in height growth. That this is not due to the depressing effect of the nitrogenous fertilizer on the P uptake by the needles is shown by the failure to stimulate growth with further applications of phosphate and anticipated statistically by the absence of a significant relationship between growth responses and the P concentration in the needles. Since the total phosphate content of the soil is much higher than the level at which Japanese larch might respond to phosphate (cf. Van Goor [5]) these findings are not unexpected and are confirmed by the absence of a P response in the Michaelston plantation on a soil with comparable phosphate content. Furthermore, if

concentrations are of diagnostic value, it would seem that over the range 0.25 to 0.5% P, this nutrient is not seriously limiting growth. A rather surprising feature of these experiments is that even at the lower P contents (*i.e.* at high N levels), the addition of phosphate did not significantly influence the P concentration in the needles. There is of course the possibility that the ground mineral phosphate applied under these conditions did not make extra phosphate available to the trees (or at least to the current shoots) but in view of previous experience with this fertilizer in stimulating the P uptake of other species this is not considered very likely; what is perhaps more probable is that with no added N, the P concentration is at such a level that further increases in P supply would produce very little or no further increase in concentration whereas in the presence of the N fertilizer the uptake of P by the needles is suppressed, though whether this occurs outside or inside the tree is not known. That this involves a true and not false antagonism is shown by the fall in absolute P content of the needles at high N supplies: a somewhat similar phenomenon has recently been reported for spruce and birch by Tamm [8].

There are however other possible explanations for the fall in height growth at high N supplies other than the fact that the N concentration in the needles exceeds the so called optimum value. Data from this and the earlier investigation on Japanese larch in this area indicate that over a certain range at least (up to about 1% dry weight) growth is positively related to the K concentration in the needles; the regression on residual variances would in fact suggest that growth responses can be partially interpreted in terms of the influence of treatment on this K concentration and since this has been shown to fall with increasing N supply (probably by false antagonism) growth would be expected to fall correspondingly. This view is supported by the observation (Figure 1A) that the fall in growth is less at high K than at low K supply and that the response to the K fertilizer is greater at high N than at low N supply. On the other hand if K concentration alone was the deciding factor some relationship with K would be expected in the Michaelston specimens in which the range of K concentration in the needles is lower than that in the Hackness specimens. This has not been found; there is in fact a significant negative relation between height growth and K concentration in this plantation (cf. Figures 3A, E) and though

this is probably a reflection of the inverse relationship with N, there is nevertheless no evidence for a K deficiency.

An alternative approach is provided by the concept of a balanced nutrition. In both trials there is definite evidence that in the material at the end of the experiment *i.e.* after the fertilizer responses have taken place, the amount of growth made by the trees in this year can be significantly related to the varying N P, N K and probably also the K P ratios. This of course does not establish a causal relationship between growth response and nutrient balance and the fact that growth can be expressed alternatively (but not collectively) in terms of one or the other ratio would suggest that these ratios merely reflect changes in composition brought about by the treatments. This view is supported, at least in the Hackness trial, by the failure to establish a significant residual regression of height increment on nutrient ratios either independent of or in combination with the concentration factors. A further point of importance is that, in the Hackness specimens at least, the N concentration in the needles is significantly but *inversely* related to the P and K concentrations ($P < .05$), reflecting of course the decreasing K and P concentrations with increasing N concentrations: hence, relationships based on the ratios N P or N K approximate mathematically to relations based on N^2 which has already been shown to be related to growth. Nevertheless the consistency of these relationships and the similarity of the calculated optimum values, especially for N P, obtained not only in these trials but also by other investigators would suggest that such ratios do in fact possess some value in the diagnosis of particular mineral deficiencies. Diagnosis based on concentrations could most probably with advantage be complemented by a study of nutrient ratios; however, since all these factors are interrelated to a greater or lesser extent and almost all are mutually influenced by fertilizer treatment to an extent depending upon prevailing conditions, the actual amount of response to a particular fertilizer treatment cannot of course be forecasted.

These studies confirm not only the applicability of the multiple regression approach to the analysis of complicated relationships of the kind found above but also its value in establishing an interpretation in terms of fertilizer response. The fact that growth responses can be expressed with some precision in terms of a partic-

ular mathematical equation is perhaps of less significance than the fact that, as far as nutrient concentrations or ratios in the foliage are concerned, each factor can be considered as making its own *independent* contribution to growth. The similarity of the results for the two plantations is particularly striking but how far this applies over a range of different environmental conditions and of different stages in the growth of the trees is not known with any certainty, though of course, of considerable interest. As far as van Goor's [4] data are concerned, there would appear to be no very great differences between seedlings grown on different soils with varying additions of N and P, and the present relations established for young trees in the field.

Data recently obtained in a countrywide survey of the phosphate status of Japanese larch trees in relation to their growth and response to P manures would also suggest that differences in environment do not seriously influence the optimum P concentration in the needles (about 0.4 to 0.5% dry weight) though, as would be expected, the actual amount of growth made at any particular P concentration varies appreciably.

ABSTRACT

Significant responses in the height growth of young Japanese larch trees on a heathland site to the application of a nitrogenous, and to a lesser extent, to that of a potassic fertilizer have confirmed previous theoretical deductions based on the relationship between the mineral composition of the needles and the growth of this species on a similar site (cf. Leyton [6]). As before, growth could be significantly related by multiple regression analysis to the concentrations of N and K in the needle dry weight; further covariance analyses of residual variances would suggest that the growth responses could be interpreted directly in terms of the fertilizer influence on these concentrations. These analyses indicate an optimum N concentration of about 2.8% dry weight. The fall in growth observed at high N supplies (higher N concentrations) could not be related to the observed fall in the P concentration which resulted from an apparently direct antagonistic influence of the N fertilizer in P uptake by the needles; this was confirmed by a P manurial trial introduced in the following year and is attributed to the relatively high P content of the soils in question. The fall in growth may be related either to the fall in K concentration, as a result of false antagonism, or to a change in the NPK balance in the needles. In the latter case, growth could be significantly related either to the varying N/P ratio in the needles or to the varying N/K and K/P ratios; the calculated optimum values for these ratios

of 12.6, 2.4 and 5.4 respectively, agree closely with optimum values postulated elsewhere for Japanese larch seedlings and many other species.

In a second trial with Japanese larch in a different part of the country but on a soil with a comparable P content, positive responses in growth were obtained to N but not to P manuring. Statistical analyses revealed once more that the response could be interpreted directly in terms of the changes induced in the N concentration in the needles. Alternatively growth could again be related to the varying N/P, N/K or K/P ratios and the calculated optimum values of 14.7–17.2, 5.3–5.6 and 2.5 respectively, are of similar order to those found in the other trial.

It would appear that, compared with nutrient concentrations, these nutrient ratios represent an alternative rather than a more fundamental expression of the complex interrelationship between nutrient supply, foliage composition and tree growth and that in these cases at least, either or both approaches may be applied successfully to the diagnosis of nutritional disturbances.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author gratefully acknowledges the co-operation of H. M. Forestry Commission Research Branch in setting up the field trials and the advice and guidance of Mr. J. F. Scott of the Biometrics Unit, Oxford University, on the statistics.

Received March 14, 1957.

REFERENCES

1 Beaufils, E. R., Les equilibres minéraux dans le feuillage et dans le latex de l'Hevea Brasiliensis. Ann. agron. **7**, 205 (1956).
2 Boszormenyi, Z., Mineral nutrition of Scots pine seedlings I. Agrokemia es Talajtan (Budapest) **5**, 75 (1956).
3 Gast, P. R., Studies on the development of conifers in raw humus. III. The growth of Scots pine (*Pinus silvestris* L.) seedlings in pot cultures of different soils under varied radiation intensities. Medd. Skogsförsöksanst. **29**, 587 (1937).
4 Goor, C. P. van, The influence of nitrogen on the growth of Japanese larch (*Larix leptolepis*). Plant and Soil **5**, 29 (1953).
5 Goor, C. P. van, Groei en groeiplaats van de Japanse Lariks. Nederl. Boschbouwk. Tijdschr. **26**, 298 (1954).
6 Leyton, L., The relationship between the growth and mineral composition of the foliage of Japanese larch (*Larix leptolepis* Murr). Plant and Soil **7**, 167 (1956).
7 Prevot, P. and Ollagnier, M., Peanut and oil palm foliar diagnosis interrelations of N, P, K, Ca, Mg. Plant Physiol. **29**, 26 (1954).
8 Tamm, C. O., Studies on forest nutrition. III. The effect of supply of plant nutrients to a forest stand on a poor site. Medd. Skogsförsöksanst. **46** (3) (1956).

Plant and Soil IX, no. 1 September 1957

ÜBER DEN EINFLUSS VERSCHIEDENER ANIONEN AUF DIE AUFNAHME VON CALCIUM, NATRIUM UND KALIUM

Von K. SCHARRER und J. JUNG

Aus dem Agrikulturchemischen Institut der Justus Liebig Universität, Giessen

Neuere Untersuchungen über die Gleichgewichtsbeziehungen zwischen Kationen und Anionen im Rahmen der Nährstoffaufnahme haben gezeigt, daß durch die Anionen sowohl eine Förderung als auch eine Begrenzung der Kationenaufnahme bewirkt werden kann [1, 3, 5, 6]. Die wechselseitigen Beziehungen zwischen den Elementen der Kationengruppe werden vornehmlich durch das jeweilige Verhältnis von Anionen zu Kationen bestimmt. Es muß jedoch angenommen werden, daß innerhalb dieser übergeordneten Beziehungen quantitativer Art auch solche qualitativer Art zur Geltung kommen; so ist in diesem Zusammenhang auch von Interesse, in welchem Maße die Aufnahme eines Kations durch das mit dem gleichen Salz zugeführte Anion beeinflußt werden kann.

Auf diese Frage ist die vorliegende Untersuchung ausgerichtet. Sie enthält die Ergebnisse von Gefäßversuchen, in deren Rahmen die Aufnahme von Calcium, Natrium und Kalium aus verschiedenen Salzen dieser Elemente festgestellt wurde. Bezüglich des hohen Interesses, das auch die Einbeziehung des Magnesiums in diese Fragestellung beanspruchen kann, sei auf künftige einschlägige Untersuchungen hingewiesen.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Der Gefäßversuch, der mit Mais und Sonnenblumen auf Quarzsand durchgeführt wurde, weist 45 Reihen bei 4-facher Wiederholung auf. Je Mitscherlich-Gefäß (7,7 kg Quarzsand) wurden als Grunddüngung (ausser in den Steigerungsreihen mit Ca-, Na- und K-Nitrat) 0,50 g Stickstoff in Form von Ammoniumnitrat und (mit Ausnahme der Ca-, Na- und K-Phosphat-

Steigerungsreihen) 0,175 g Phosphor (P) als sekundäres Calciumphosphat zugeführt. In den Calcium- und Natrium-Steigerungsreihen (1–30) kamen 0,50 g Kalium zu gleichen Teilen als Chlorid und Sulfat zur Anwendung. In den Natrium- und Kalium-Steigerungsreihen (16–45) wurden fernerhin 0,50 g Calcium in Form von Carbonat, in den Calcium- und Kalium-Steigerungsreihen (1–16 und 31–45) 0,20 g Natrium als Chlorid mit der Grunddüngung zugeführt. Die Stickstoffzufuhr in den Steigerungsreihen mit Ca-, Na- und K-Nitrat ist den jeweils als Versuchsdüngung zugeführten Mengen Calcium, Natrium und Kalium äquivalent; ebenso die Phosphorgabe in den Steigerungsreihen mit Ca-, Na- und K-Phosphat.

InRahmen der Versuchsdüngung wurden in den Reihen 1–15 die verschiedenen Salze des Calciums, in den Reihen 16–30 die entsprechenden Salze des Natriums und in den Reihen 31–45 die des Kaliums in jeweils drei verschiedenen Gaben zugeführt. Den Steigerungsstufen, die in den folgenden Tabellen mit den Indexzahlen *1*, *2* und *3* bezeichnet wurden, entsprechen folgende Mengen:

Beim Calcium	*beim Natrium*	*beim Kalium*
1 = 0,50 g Ca	*1* = 0,25 g Na	*1* = 0,25 g K
2 = 1,00 g Ca	*2* = 0,50 g Na	*2* = 0,50 g K
3 = 2,00 g Ca	*3* = 1,00 g Na	*3* = 1,00 g K

Die Art der in den einzelnen Versuchsreihen zugeführten Ca-, Na- und K-Salze geht aus der folgenden Zusammenstellung hervor:

Calcium	*Natrium*
R. 1– 3 = $CaCO_3$	R. 16–18 = $NaHCO_3$
R. 4– 6 = $CaCl_2.6H_2O$	R. 19–21 = NaCl
R. 7– 9 = $Ca(NO_3)_2.4H_2O$	R. 22–24 = $NaNO_3$
R. 10–12 = $CaHPO_4.2H_2O$	R. 25–27 = $Na_2HPO_4.12H_2O$
R. 13–15 = $CaSO_4.2H_2O$	R. 28–30 = $Na_2SO_4.10H_2O$

Kalium

R. 31–33 = $KHCO_3$
R. 34–36 = KCl
R. 37–39 = KNO_3
R. 40–42 = K_2HPO_4
R. 43–45 = K_2SO_4

Die Entwicklung der Mais- und Sonnenblumenpflanzen während der Vegetationsperiode war bis auf einige Versuchsreihen normal. Schädigungen auf Grund der verabfolgten Düngung ergaben sich lediglich in den Reihen mit gesteigerten Gaben von Calciumchlorid. Ein verminderter Wuchs war bei den Pflanzen der Düngungsreihen mit Calciumsulfat festzustellen.

Die Pflanzen wurden zu Beginn der generativen Phase abgeerntet und nach erfolgter Aufarbeitung der Analyse auf die wesentlichen Makronährstoffe unterzogen.

Der Stickstoff wurde nach der üblichen Kjeldahlmethode, der Nitrat-N nach dem Xylenolverfahren [10] bestimmt. Zur Bestimmung des Phosphors wurde die Vanadatmethode und für Gesamtschwefel das gravimetrische Verfahren mit nasser Veraschung [7] benutzt. Für die Chloridbestimmung wurde mit sehr gutem Erfolg eine von uns entwickelte potentiometrische Methode angewandt [9].

Kalium und Natrium wurden auf flammenphotometrischem Wege bestimmt, ebenso auch das Calcium, nach der von uns ausgearbeiteten Methode [4].

Auf die Ermittlung des Magnesiumgehaltes der Versuchspflanzen wurde verzichtet, zumal dieses Element bei der vorliegenden Fragestellung absichtlich nur in sehr geringen Mengen zugeführt wurde.

DIE ERGEBNISSE

Für die Beurteilung der Nährstoffaufnahme und insbesondere der Aufnahme von Calcium, Natrium und Kalium durch die Pflanzen der verschiedenen Düngungsreihen ist es von Bedeutung, ob man die Gehaltswerte oder die absoluten, je Gefäß entzogenen Mengen des jeweiligen Elementes betrachtet. Im Falle der Calciumdüngungsreihen kommt man dabei zu entgegengesetzten Resultaten. In den Steigerungsreihen mit Ca-Chlorid liegt der Mineralstoffgehalt der Planzen wesentlich höher als in den Reihen, in denen Ca-Carbonat, -Nitrat oder -Phosphat verabfolgt wurden. In der Ertragsbildung hingegen liegen die Reihen mit Chloridzufuhr an letzter Stelle. Errechnet man nun beim Calcium die gesamte Menge dieses Elementes, die in den oberirdischen Pflanzenteilen angereichert wurde, so ergibt sich für die Chloridreihen trotz wesentlich höheren Ca-Gehaltes der weitaus geringste Ca-Entzug. Der hohe Ca-Gehalt der mit Ca-Chlorid gedüngten Pflanzen ist somit auf die physiologisch ungünstige Wirkung dieses Salzes zurückzuführen, von der sich infolge verringerter Ertragsbildung im allgemeinen ein hoher Mineralstoffgehalt ableitet [8].

Bei den gegebenen Unterschieden in der Ertragsbildung kann anhand der prozentualen Gehaltswerte nicht einwandfrei beurteilt werden, ob und in welchem Maße durch das im jeweiligen Salz vorhandene Anion ein direkter Einfluß auf die Aufnahme von Calcium, Natrium und Kalium ausgeübt wurde. Für die entsprechende Beurteilung dieser Frage müssen daher die nachfolgend angegebenen absoluten Entzugszahlen herangezogen werden.

TABELLE I

Die Menge der durch die Pflanzen der Calciumdüngungsreihen aufgenommenen Elemente in mg/Gefäß

		Mais								Sonnenblumen							
	Düngungsreihe	Ertrag i.g Tr. Subst.	N*	P	S	Cl	K**	Na	Ca	Ertrag i.g Tr. Subst.	N	P	S	Cl	K	Na	Ca
1	Ca-Carbonat 1	26,98	372	83	47	258	469	4	143	28,73	275	68	99	231	316	14	364
2	2	28,68	370	79	45	269	492	3	153	31,50	297	71	88	265	340	16	506
3	3	29,30	365	82	48	277	504	3	172	30,74	301	63	82	268	329	15	575
4	Ca-Chlorid 1	13,92	294	63	36	221	363	2	73	7,40	266	39	47	316	208	31	181
5	2	8,64	250	42	27	216	290	3	71	6,60	240	34	36	303	162	20	165
6	3	3,08	103	12	12	103	88	1	48	8,84	350	53	44	535	248	26	279
7	Ca-Nitrat 1	22,87	276	63	40	231	461	4	132	26,14	174	56	69	208	334	13	320
8	2	31,63	506	67	64	227	495	5	198	37,14	378	69	107	287	355	27	698
9	3	29,36	706	56	58	210	465	7	245	32,20	705	51	95	240	321	29	878
10	Ca-Phosphat 1	22,27	375	165	44	203	476	4	147	14,04	259	110	79	183	273	19	253
11	2	23,82	359	223	47	217	470	4	180	16,84	286	165	81	192	274	18	398
12	3	25,33	302	244	41	214	462	6	190	17,84	325	213	72	192	288	20	542
13	Ca-Sulfat 1	9,89	295	63	51	120	343	3	54	11,63	348	63	117	213	317	33	412
14	2	15,42	331	66	70	165	460	3	71	9,19	260	46	111	167	247	29	381
15	3	13,07	303	53	66	152	351	3	62	11.52	261	52	136	206	294	42	409

* Die Angaben beziehen sich auf Gesamt-N, also einschliesslich des bei einigen Proben vorhandenen Nitrats.

** Die besonders hohen Werte für die vom Mais entzogenen Kalium-Mengen, die in einigen Fällen sogar die Höhe der verabfolgten Gaben erreichen, sind zum Teil auch auf den ursprünglichen Kaliumgehalt des Quarzsandes zurückzuführen, der ca. 2 mg laktatlösliches Kalium in 100 g enthält.

1. *Die Calciumaufnahme*

Die Entzugszahlen der Pflanzen aus den Calciumdüngungsreihen sind in Tabelle I aufgeführt. Bezüglich der aufgenommenen Calciummengen lassen sich in Abhängigkeit zum dargebotenen Ca-Salz grosse Unterschiede erkennen. Bemerkenswert ist die Reihenfolge, in die sich die verschiedenen Salze nach steigender Ca-Aufnahme einordnen lassen. Wie aus der einschlägigen Tabelle entnommen werden kann, haben die mit Ca-Chlorid gedüngten Pflanzen den weitaus niedrigsten Calciumentzug aufzuweisen. Dann folgen die Reihen mit Ca-Sulfat, Ca-Carbonat, Ca-Phosphat und Ca-Nitrat.

Die vorliegenden Unterschiede lassen erkennen, daß vom begleitenden Anion im Falle der verschiedenen Calciumsalze ein Einfluß auf die Aufnahme des Calciums ausgeübt wird und daß dieser Einfluß offenbar stoffwechselphysiologische Ursachen hat. Die Anionen Nitrat, Phosphat und Carbonat, die bei den Syntheseprozessen der Pflanze eine bedeutsamere Rolle einnehmen als Sulfat und Chlorid, haben die Aufnahme des Calciums in wesentlich stärkerem Maße gefördert.

Anhand der Analysenresultate wurde auch gleichzeitig untersucht, ob die unterschiedliche Aufnahme des Calciums aus seinen verschiedenen Salzen nicht mit entsprechenden Unterschieden in der Menge aller aufgenommenen Anionen zusammenhängt.

Für einen derartigen Vergleich konnten die Düngungsreihen mit Calciumnitrat und Calciumcarbonat nicht herangezogen werden. Im ersteren Falle ist nämlich der Stickstoff ausschliesslich als Anion (Nitrat) verabfolgt worden. Daraus ergibt sich gegenüber allen anderen Düngungsreihen, bei denen der Stickstoff in beiden (+ und −) Formen zugeführt wurde, ein Unterschied, der bei einer derartigen Betrachtung keine sichere Vergleichsmöglichkeit bietet. Im Falle des Carbonats entspricht die ermittelte Anionensumme nicht genau der tatsächlich aufgenommenen Menge, da die durch die Wurzeln aufgenommene Kohlensäure, infolge ihrer analytisch sehr umständlichen Erfassung, hier nicht bestimmt wurde. Wenn man jedoch bei den übrigen Düngungsreihen mit Chlorid, Phosphat und Sulfat voraussetzt, daß die beiden Stickstoff-formen, entsprechend ihrer Zufuhr, in annähernd gleichem Verhältnis aufgenommen wurden, dann läßt sich ein Vergleich zwischen diesen zuletzt erwähnten Reihen durchaus ermöglichen. In Tabelle II

wurde diese Gegenüberstellung vorgenommen, wobei der gesamte analytisch ermittelte Stickstoff rein rechnerisch als „Anion" eingestuft wurde, um so den relativen Unterschied in der Anionenaufnahme zu erfassen.

TABELLE II

Die gesamte Anionenaufnahme (in Millival) im Vergleich zur gesamten Calcium- bzw. Natrium-Aufnahme in den Düngungsreihen mit Chlorid, Phosphat und Sulfat

Reihe	Art des Salzes	Mais		Sonnenblumen	
		Anionensumme mval	Ca-Aufnahme in mg	Anionensumme mval	Ca-Aufnahme in mg
4	Ca-Chlorid 1	35,5	73	34,7	181
5	2	29,7	71	31,3	165
6	3	12,1	48	48,0	279
10	Ca-Phosphat 1	51,2	147	39,3	253
11	2	56,3	180	64,9	398
12	3	53,8	190	53,7	542
13	Ca-Sulfat 1	33,8	54	44,2	412
14	2	39,1	71	34,6	381
15	3	35,1	62	38,0	409
		Anionensumme mval	Na-Aufnahme in mg	Anionensumme mval	Na-Aufnahme in mg
16	Na-Chlorid 1	45,4	3,2	35,2	24,0
17	2	44,2	6,1	36,1	51,0
18	3	44,0	16,8	40,1	131,7
22	Na-Phosphat 1	44,1	5,0	29,3	23,2
23	2	46,8	14,0	34,4	73,9
24	3	52,2	159,3	38,1	264,0
25	Na-Sulfat 1	44,5	6,5	36,1	24,8
26	2	43,7	8,0	32,2	65,8
27	3	44,8	29,3	37,6	173,4

Bei den Maispflanzen läßt sich eine Beziehung zwischen der Anionensumme und den aufgenommenen Calciummengen erkennen; in den Düngungsreihen mit Ca-Phosphat deckt sich die hohe Calciumaufnahme mit einer relativ hohen Menge an aufgenommenen Anionen. Dies trifft aber für die Sonnenblumen nicht zu. Außerdem wurden für diesen Vergleich auch einige Ergebnisse der Natriumsteigerungsreihen vorweggenommen, aus denen hervorgeht, daß die Unterschiede in der Aufnahme des Natriums, die in ähnlicher Weise von der jeweiligen Salzart beeinflußt wird, nicht mit der Höhe der aufgenommenen Anionensumme erklärt werden können.

Die Unterschiede in der Aufnahme des Calciums durch die Pflanzen dieses Versuches müssen daher mit dem spezifischen Einfluß der einzelnen Anionen erklärt werden, und zwar im Sinne der vorhin erwähnten stoffwechselphysiologischen Beziehung.

Bei der theoretischen Begründung dieser Feststellung ist es wichtig, daß im Falle der Anionenaufnahme eine Bevorzugung der betreffenden Ionen nach ihrer physiologischen Bedeutung angenommen werden kann. Bei den Kationen läßt sich der Beweis für eine derartige Bevorzugung erbringen; es zeigt sich hier, daß der Einfluß von Calcium, Natrium und Magnesium auf die Anreicherung des Kaliums in der Pflanze schwächer ist als der des Kaliums auf die Aufnahme der genannten Kationen [5]. Diesem qualitativen Moment im Rahmen der Nährstoffaufnahme dürfte neben den quantitativen Wechselwirkungen, die sich aus dem Verhältnis von positiv und negativ geladenen Ionen ergeben, auch bei anderen Elementen eine mehr oder weniger grosse Bedeutung zukommen.

Wenn man diese Hypothese gelten läßt, dann müßte man fernerhin annehmen, daß die im jeweiligen Salz ursprünglich gegebene Kopplung der Base und des Säurerestes auch im ionogenen Zustand (sofern es sich um sorptionsfreie Medien handelt) in irgendeiner Weise weiter wirkt, so daß bei der bevorzugten Aufnahme des Anions auch das im Ionenpaar vertretene Kation in ähnlicher Weise bevorzugt wird.

Mit einer direkten Aufnahme von anorganischen Molekülen, wie sie bei mehreren organischen Verbindungen gegeben ist, würden sich die vorliegenden Ergebnisse einfacher erklären lassen. Es ist aber sehr fraglich, ob und in welchem Ausmaße eine derartige Aufnahme von undissoziierten Molekülen überhaupt in Betracht kommt.

2. *Die Natriumaufnahme.*

Die auf Entzugszahlen umgerechneten Analysenresultate aus den Natriumsteigerungsreihen sind in Tabelle III angegeben. Auffallend ist zunächst, daß die Maispflanzen bei allen Gaben von 0,25 und 0,50 g Natrium/Gefäß unabhängig vom jeweiligen Salz nur äusserst geringe Mengen an Natrium aufgenommen haben. Bei den Sonnenblumen ist die Na-Aufnahme in den entsprechenden Düngungsreihen höher, läßt aber ebenfalls keine nennenswerten Unterschiede in Abhängigkeit zum jeweiligen Na-Salz erkennen.

TABELLE III

Die Menge der durch die Pflanzen der Natrium-Düngungsreihen aufgenommenen Elemente in mg/Gefäß.

	Düngungsreihe	Mais								Sonnenblumen							
		Ertrag i. g Tr. Subst.	N	P	S	Cl	K	Na	Ca	Ertrag i. g Tr. Subst.	N	P	S	Cl	K	Na	Ca
16	Na-Bicarbonat 1	27,87	337	73	49	212	460	9	142	27,35	226	55	87	126	328	24	305
17	2	26,67	322	69	49	182	490	15	110	29,81	230	53	86	123	378	68	305
18	3	23,20	291	66	46	155	499	117	75	28,76	229	53	77	113	364	198	288
19	Na-Chlorid 1	26,86	364	83	62	266	472	3	133	22,90	253	65	60	250	330	24	345
20	2	26,66	356	85	47	270	471	6	115	28,17	248	61	66	298	351	51	354
21	3	25,20	345	82	66	261	475	17	98	27,05	252	61	68	424	358	132	334
22	Na-Nitrat 1	12,91	138	53	32	135	412	2	38	17,32	112	37	33	63	282	24	201
23	2	21,68	234	75	44	152	491	8	63	27,14	186	59	67	91	376	39	279
24	3	28,55	432	83	63	150	500	100	55	37,13	316	61	71	147	365	305	337
25	Na-Phosphat 1	28,10	370	92	59	183	493	5	115	26,92	219	61	72	111	302	23	268
26	2	27,50	348	149	51	156	483	14	109	29,21	243	92	77	119	372	74	286
27	3	25,04	320	228	49	149	494	159	84	27,27	241	137	64	130	374	264	258
28	Na-Sulfat 1	29,42	373	88	69	179	487	6	136	28,82	269	65	113	126	340	25	347
29	2	27,52	360	91	70	169	479	8	130	26,55	235	59	108	106	345	66	239
30	3	27,41	382	87	76	156	487	29	100	31,64	270	72	133	109	394	173	255

Mit dem Übergang zur dritten Steigerungsstufe (1 g Na/Gefäß) wird die Aufnahme dieses Elementes jedoch stark verändert. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den Calcium-Düngungsreihen ergibt sich auch beim Natrium im Falle seiner Zufuhr als Chlorid der weitaus geringste Entzug. In der vergleichbaren Versuchsreihe mit Na-Sulfat ist bei Mais ebenso nur eine sehr geringe Natriummenge aufgenommen worden. Hingegen wurde die Na-Aufnahme in den Nitrat-, Bicarbonat- und Phosphatreihen in extremer Weise erhöht. Bei den Sonnenblumen sind die Unterschiede in den Entzugszahlen nicht ganz so groß. Es läßt sich aber sehr deutlich die bei den Calciumreihen festgestellte Reihenfolge der Salze erkennen. Aus dem dargebotenen Natriumchlorid wurden je Gefäß 132 mg, aus dem Phosphat und Nitrat hingegen 264 bzw. 305 mg Natrium aufgenommen. Sulfat und Bicarbonat liegen mit 173 und 198 mg Na dazwischen.

Der Versuch hat somit ergeben, daß auch die Aufnahme des Natriums in sehr starkem Maße durch das im Salz jeweils vertretene Anion beeinflußt wird. Die vorhin als Ursache für die unterschiedliche Calciumaufnahme entwickelte Vorstellung kann durch dieses Ergebnis bekräftigt werden. Beim Natrium ist es besonders naheliegend, daß man den Einfluß der verschiedenen Anionen auf die Aufnahme dieses Elementes mit stoffwechselphysiologischen Beziehungen in Verbindung bringt. Bei ausreichender Versorgung mit Kalium kann dem Natrium – zumal bei Mais [2] – keine Nährstoffwirkung zugesprochen werden; für das Chlorion gilt das gleiche. Die Pflanze benötigt also diese beiden Elemente nicht und wird sie daher auch nur in möglichst geringen Mengen aufnehmen. Kommt dem Anion hingegen eine physiologische Bedeutung als Nährstoff zu, so wird naturgemäß seine Aufnahme bzw. Anreicherung in der Pflanze bevorzugt sein. Diese, aus physiologischen Gründen bevorzugte Aufnahme des „Nährstoff"-Anions scheint sich aber in direkter Weise auch auf die Aufnahme des aus dem gleichen Salz stammenden, für die Pflanze aber meist unbedeutenden Natriumions auszuwirken. Die extremen Unterschiede in der Natriumaufnahme bei Mais legen u.E. diese Erklärung besonders nahe.

3. *Die Kaliumaufnahme*

Auf die Kaliumaufnahme hatten die entsprechenden Anionen – wie den Ergebnissen der Tabelle IV zu entnehmen ist – keinen

TABELLE IV

Die Menge der durch die Pflanzen der Kalium-Düngungsreihen aufgenommenen Elemente in mg/Gefäß

	Düngungsreihe	Mais								Sonnenblumen							
		Ertrag i. g Tr. Subst.	N	P	S	Cl	K	Na	Ca	Ertrag i. g Tr. Subst.	N	P	S	Cl	K	Na	Ca
31	K-Bicarbonat 1	23,49	327	80	46	165	239	5	173	21,61	210	53	54	134	167	18	388
32	2	26,75	349	74	61	203	460	4	121	30,80	242	55	59	159	348	24	341
33	3	26,61	338	75	54	218	916	4	69	32,11	247	54	57	176	618	27	309
34	K-Chlorid 1	24,08	372	87	53	206	261	4	171	19,80	223	56	45	188	179	29	335
35	2	26,25	360	83	54	290	457	6	155	27,44	270	70	53	340	348	21	425
36	3	29,27	383	89	63	393	851	5	130	24,97	243	68	56	361	515	27	308
37	K-Nitrat 1	8,72	89	40	159	103	218	3	51	11,57	74	27	21	52	165	5	131
38	2	14,71	148	55	31	147	419	3	52	18,79	126	39	29	89	324	8	201
39	3	27,28	270	79	48	207	847	5	67	35,31	242	67	77	182	671	20-	331
40	K-Phosphat 1	23,50	340	53	40	173	243	4	163	21,79	226	36	61	134	174	24	276
41	2	26,44	347	95	47	194	437	5	144	26,51	249	72	56	152	320	20	281
42	3	28,84	346	157	50	219	832	6	104	32,34	214	113	73	179	536	24	263
43	K-Sulfat 1	24.00	343	82	61	165	243	3	181	21,22	261	63	69	138	178	29	329
44	2	27,88	369	87	61	209	460	6	155	26,48	247	65	100	155	299	24	317
45	3	28,55	369	90	69	238	841	4	122	27,85	251	64	142	179	571	24	240

nennenswerten Einfluß. Die Entzugszahlen zeigen insbesondere bei Mais in den vergleichbaren Düngungsreihen eine sehr grosse Übereinstimmung.

Dieses Ergebnis läßt sich vor allem auch in Anbetracht der Resultate aus den Calcium- und Natriumdüngungsreihen gut erklären: Wenn beim Calcium und Natrium die Aufnahme dieser beiden Elemente durch ein ernährungsphysiologisch wichtiges Anion stark erhöht wurde, so war dies offenbar die positive Auswirkung der bevorzugten Aufnahme dieses Anions auf das von der Pflanze nur in geringen Mengen (Ca) oder auch gar nicht benötigte Kation (Na) des ursprünglichen Salzes. Beim Kalium hingegen kann auf Grund seiner ernährungsphysiologischen Bedeutung ein derartiger Effekt jedoch kaum erwartet werden, da seine Aufnahme naturgemäß schon eine sehr bevorzugte ist. Vermutlich kommt eine Beeinflussung der Kaliumaufnahme seitens der Anionen überhaupt nur unter den angedeuteten Bedingungen als Folge der Gleichgewichtsbeziehung zwischen aufgenommenen Kationen und Anionen (Kationen-Anionenverhältnis) zustande, nicht aber als spezifische und unterschiedliche Wirkung einzelner Anionen.

4. *Das Kationen-Anionen-Verhältnis der Versuchspflanzen*

Mit der Besprechung der Versuchergebnisse hinsichtlich der Aufnahme von Calcium, Natrium und Kalium wurde der Fragestellung dieser Arbeit bereits entsprochen. Als eine, die gesamte Nährstoffaufnahme der Versuchspflanzen betreffende Ergänzung soll anhand der Tabellen V, VI und VII das Verhältnis zwischen aufgenommenen Kationen und Anionen in den einzelnen Düngungsreihen aufgezeigt werden. Die Gegenüberstellung der Summe von Kationen und Anionen in der Pflanze, ausgedrückt in Millival-% (d.h. in Milli-Äquivalenten je 100 g Substanz), erfolgt hier zwangsläufig bei einer Einstufung des gesamten Stickstoffs als Anion, da über das Verhältnis der aus dem dargebotenen Ammoniumnitrat aufgenommenen beiden N-Formen keine Aussage gemacht werden kann. Auf die Fehlermöglichkeiten, die unter diesen Umständen bei der Ermittlung von Verhältniswerten auftreten können, haben wir bereits früher [3, 5] hingewiesen.

Die Verhältniszahlen (Quotienten) in den einschlägigen Tabellen V, VI und VII sind in erster Linie innerhalb der Steigerungsstufen eines Salzes zu betrachten.

TABELLE V

Das Verhältnis von Kationen zu Anionen in den Pflanzen der Calcium-Düngungsreihen.

	Düngungsreihe	Sonnenblumen			Mais		
		Summe		Verhältnis	Summe		Verhältnis
		Anionen	Kationen	Kationen / Anionen	Anionen	Kationen	Kationen / Anionen
		in mval-%			in mval-%		
1	Ca-Carbonat 1	135	93	0,69	166	71	0,43
2	2	130	110	0,84	155	71	0,46
3	3	130	122	0,94	153	74	0,48
4	Ca-Chlorid 1	468	212	0,45	255	93	0,37
5	2	473	201	0,42	344	128	0,37
6	3	542	242	0,44	392	152	0,39
7	Ca-Nitrat 1	107	96	0,89	153	81	0,53
8	2	130	121	0,93	168	72	0,43
9	3	210	166	0,78	222	83	0,37
10	Ca-Phosphat 1	279	146	0,52	230	88	0,38
11	2	278	164	0,59	237	89	0,38
12	3	301	198	0,66	212	85	0,40
13	Ca-Sulfat 1	380	259	0,68	341	117	0,34
14	2	377	297	0,79	253	100	0,40
15	3	330	258	0,78	269	93	0,35

TABELLE VI

Das Verhältnis von Kationen zu Anionen in den Pflanzen der Natrium-Düngungsreihen

	Düngungsreihe	Sonnenblumen			Mais		
		Summe		Verhältnis	Summe		Verhältnis
		Anionen	Kationen	Kationen / Anionen	Anionen	Kationen	Kationen / Anionen
		in mval-%			in mval-%		
16	Na-Bicarbonat 1	111	90	0,81	144	69	0,48
17	2	102	93	0,91	142	70	0,49
18	3	103	112	1,09	148	93	0,63
19	Na-Chlorid 1	154	117	0,76	169	70	0,41
20	2	128	103	0,80	166	68	0,41
21	3	148	117	0,79	175	71	0,41
22	Na-Nitrat 1	89	101	1,14	160	97	0,60
23	2	95	93	0,98	143	74	0,52
24	3	100	106	1,08	165	70	0,42
25	Na-Phosphat 1	109	82	0,75	157	66	0,42
26	2	118	92	0,78	170	67	0,39
27	3	140	124	0,89	209	95	0,45
28	Na-Sulfat 1	125	94	0,75	151	66	0,44
29	2	121	88	0,73	159	69	0,44
30	3	119	96	0,81	163	68	0,42

Tabelle 3

Der Einfluß von Nitraten, Acetaten und Chloriden auf die Kationenaufnahme

	Versuchsnummer	Anionen	Summe Kationen	Summe Anionen	Verhältnis Kationen/Anionen	Summe Kationen	Summe Anionen	Verhältnis Kationen/Anionen
			Äquivalente %			Äquivalente %		
1	1	Nitrat						
2	2							
3	3							
4	4	Chlorid						
5	5							
6	6							
7	7	Acetat						
8	8							
9	9							
10	10	Phosphat						
11	11							
12	12							
13	13	Sulfat						
14	14							
15	15							

Während wir, daß die Pflanzen aller Kationen mit gesteigerter Chloridzufuhr Ca-Konzentrationen K/Cl bei Mais eine starke positive Korrelation der Verhältniszahlen innerhalb der Kationengruppen zueinander feststellen. Beim Mais zeigt sich in den Versuchen mit Calcium- und Natrium-Nitrat die bereits früher nachgewiesene Erhöhung im Verhältnis von Kationen/Anionen bei steigender Nitratzufuhr [2, 5, 6]. In den Sulfat-Reihen liegen in Fällen der Ca- und Na-Salze gleichfalls K/Cl bei normalen, gut übereinstimmende Werte innerhalb der gleichen Versuchsgruppe vor.

Bei den Acetatversuchen ist mit erhöhter Zufuhr in allen Fällen eine deutliche Verschiebung im Verhältnis Kationen/Anionen zugunsten der Kationen festzustellen. Der deutliche Anstieg der Quotienten ist jedoch darauf zurückzuführen, daß die von den Wurzeln aufgenommenen Kationen nicht vollständig und daher nicht der Anionenmenge entsprechend verbraucht werden können. Eine diese Feststellung, die gleichzeitig auch als Arbeitsprobe für die quantitative Aufnahme der Kationensalze durch die Wurzeln dienen kann, soll anhand weiterer Versuche genauer bearbeitet werden.

Abschließend soll noch darauf hingewiesen werden, daß bei der

gegebenen Stickstoffversorgung mit Ammoniumnitrat in der Mehrzahl der Kalium-Steigerungsreihen eine Erhöhung der Quotienten vorliegt. Diese Veränderung äussert sich in einem Sprung beim Übergang von der zweiten zur dritten Kalium-Stufe. Es scheint nicht ausgeschlossen zu sein, daß hierin eine Wechselbeziehung zwischen Kalium und dem Kation des Stickstoffs zum Ausdruck kommt.

ZUSAMMENFASSUNG

1. In Gefäßversuchen wurde an Mais und Sonnenblumen die Aufnahme von Calcium, Natrium und Kalium aus verschiedenen Salzen dieser Elemente untersucht.

2. In der Aufnahme von Calcium und Natrium ergaben sich in Abhängigkeit zu den verabfolgten Salzen bei beiden Pflanzen grosse Unterschiede. Stets war bei Zufuhr dieser Elemente in Form von Chlorid eine niedrige Aufnahme zu verzeichnen, während entsprechende Mengen Nitrat, Phosphat und Carbonat (Bicarbonat) zu wesentlich höheren Entzugszahlen führten. Für Sulfat lagen die Werte zwischen denen für Chlorid und denen der zuletzt genannten Gruppe.

3. Als Ursache der unterschiedlichen Aufnahme von Calcium und Natrium wurde im Rahmen einer Hypothese angenommen, daß vom Anion des jeweiligen Ca- bzw. Na-Salzes ein spezifischer Einfluß ausgeübt wird, der offenbar mit dessen ernährungsphysiologischer Rolle zusammenhängt. Die von der Pflanze nur in geringen Mengen (Ca) oder meistens überhaupt nicht benötigten Elemente (Na) können infolge der bevorzugten Aufnahme eines ernährungsphysiologisch wichtigen Anions in wesentlich stärkerem Maße in die Pflanze eindringen. In dieser Weise werden die festgestellten Unterschiede als ein qualitatives Moment innerhalb der Gleichgewichtsbeziehungen zwischen Kationen und Anionen in der Nährstoffaufnahme angesehen.

4. Beim Kalium hatte die Art des Salzes keinen Einfluß auf die jeweils aufgenommenen Mengen dieses Elementes. Die ernährungsphysiologische Rolle des Kaliums, die sich auch in einer bevorzugten Aufnahme äussert, schließt offenbar jede Beeinflussung seitens der Anionen aus, sofern keine Veränderungen in den quantitativen Gleichgewichtsbeziehungen zwischen Kationen und Anionen eintreten.

5. Als eine, die gesamte Nährstoffaufnahme der Versuchspflanzen betreffende Ergänzung wurde das Verhältnis von aufgenommenen Kationen zu Anionen in den verschiedenen Düngungsreihen aufgezeigt und unter Hinweis auf die für diesen Versuch geltenden Einschränkungen besprochen.

Eingegangen am 17. November 1956.

LITERATUR

1 Bear, F. E., Cation and anion relationships in plants and their bearing on crops quality. Agron. J. **42**, 176 (1950).

2 Harmer, P. M., Benne, E., Laughlin, W. M. u. Key, C., Factors affecting crop respons to sodium applied as common salt on Michigan muck soil. Soil Sci. **76**, 1–17 (1953).

3 Jung, J., Über den Einfluß der Ernährung auf das Verhältnis von Kationen zu Anionen in der Pflanze. Landwirtsch. Forsch. 7. Sonderheft, 114–120 (1956).

4 Scharrer, K. u. Jung, J., Fehlerquellen bei der flammenphotometrischen Calciumbestimmung und ihre Behebung. Z. Pflanzenernähr. Düng. u. Bodenk. **67**, 240–248 (1954).

5 Scharrer, K. u. Jung, J., Der Einfluß der Ernährung auf das Verhältnis von Kationen zu Anionen in der Pflanze. Z. Pflanzenernähr. Düng. u. Bodenk. **71**, 76–94 (1955).

6 Scharrer, K. u. Jung, J., Weitere Untersuchungen über die Nährstoffaufnahme und das Verhältnis von Kationen zu Anionen in der Pflanze. Z. Pflanzenernähr. Düng. u. Bodenk. **71**, 97–113 (1955).

7 Scharrer, K. u. Jung, J., Zur Bestimmung des Gesamt-, Protein- und Sulfat-Schwefels in pflanzlichen Futtermitteln. Z. Tierernähr. Futtermittelk. **10**, 25–31 (1955).

8 Scharrer, K. u. Jung, J., Über den Einfluß von Mangan, Kupfer, Zink, Eisen, Bor, Molybdän und Kobalt auf die Mineralstoffaufnahme bei Mais und Sonnenblumen. Z. Pflanzenernähr., Düng. u. Bodenk. Z. Pflanzenernähr. Düng. U. Bodenk. **75**, 47—66 (1956).

9 Scharrer, K. u. Jung, J., Die Bestimmung des Chloridgehaltes pflanzlicher und tierischer Substanzen auf potentiometrischen Wege Z. Tierernähr. Futtermittelk. **12**, 13—19 (1957).

10 Scharrer, K. u. Seibel, W., Vergleichende Überprüfung verschiedener Methoden zur Nitratbestimmung in Futterpflanzen. Z. Tierernähr. Futtermittelk. **11**, 145–156 (1956).

COMPARISON OF PRUNING (TOPPING, SUCKERING) EFFECTS IN NORMAL AND BORON-DEFICIENT TOBACCO ON RELATIVE GROWTH AND ALKALOID CONTENT OF LEAF, STALK, AND ROOT

by ROBERT A. STEINBERG and R. N. JEFFREY *

Agronomic studies on nicotine production in the tobacco plant have been largely based on the alkaloid content of the leaves and stalk [3 4]. In practice, increase in nicotine content of the tops is brought about by pruning, *i.e.* topping (decapitation) and suckering (removal of branches). Insufficient evidence is available to determine the manner in which pruning leads to an increased content of alkaloid in the tops and the extent to which transport from root to top is concerned. Yield and alkaloid content of the root were usually not determined. Garner [2] cites but a single reference to tobacco root examination after topping and suckering. Berthold [1] noted that the roots of pruned plants appeared to be larger than those of unpruned plants and noted visual differences in root morphology.

The present study in water culture is the result of an attempt to obtain quantitative data for the effects of pruning on subsequent relative alkaloid content and growth of leaf, stalk, and root. Such data were considered desirable since they might aid in clarifying the reasons for certain field operations found desirable in the production of tobacco. Quantitative examination of soil-grown roots is crude at best.

Simultaneous parallel experiments were carried out with boron-deficient plants. These are subject to what might be called "natural" pruning, since death of the apical bud and inhibition of axillary buds are characteristic symptoms of boron deficiency in tobacco.

* Physiologists, Field Crops Research Branch, Agricultural Research Service, U. S. Department of Agriculture, Beltsville.

Parallel determinations of yields and alkaloid in leaf, stalk, and roots as affected by duration of growth after pruning and extent of pruning would, it was hoped, throw additional light on the responses in both normal and deficient plants [6].

One of the relations dealt with here includes the extent to which synthesis and transport are concerned with increase of alkaloid in the tops following pruning. Another is the relation of size and morphology (branching) of root to alkaloid synthesis. Parallel experiments with minus-boron plants were included to determine whether "natural pruning", due to deficiency, was an adequate explanation of increased alkaloid synthesis, and increased branching of roots [6].

EXPERIMENTAL METHODS

Connecticut Broadleaf tobacco plants were each grown in a ten-liter jar in the greenhouse during fall (October–December) and spring (March–May). The experimental procedures have been detailed in a previous publication [5]. The two stock solutions used to prepare the nutrient solution had the following composition per liter:

I.			II.		
	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	275 g		K_2HPO_4	75.0 g
	$Mg(NO_3)_2.6H_2O$	70 ,,		KNO_3	12.5 ,,
	NH_4NO_3	20 ,,		$(NH_4)_2SO_4$	17.5 ,,
	Fe	—			
	Zn	80 mg			
	Cu	20 ,,			
	Mn	260 ,,			
	B	200 ,,			

The procedure employed was to prepare 2 liters of stock solution I with boron, 2 liters of stock solution I without boron, and 4 liters of stock solution II; all of 200 × concentration. These quantities were sufficient to prepare 800 liters of nutrient solution. Fifty ml of each solution (200 ×) were added to each jar and diluted to 10 liters. Iron was added to each jar separately. The micronutrients were added as chlorides except boron which was added as boric acid. The composition of the nutrient solution per liter after dilution was:

N	264	mg/liter	Fe	15.00	mg/liter
P	67	,,	Zn	0.20	,,
K	193	,,	Cu	0.05	,,
Ca	233	,,	Mn	0.65	,,
Mg	33	,,	B	0.50	,,
S	21	,,	Mo	—	,,

Ten liters of this solution sufficed to produce normal flowering tobacco plants of as much as 950 g total green weight. Only replenishment of water was

necessary, with semi-weekly stirring. Use of water from an Acree still collected in a tin-lined copper tank of 100-gallon capacity obviated the need for molybdenum addition to the solution. (In one instance when pyrex-distilled water was substituted for water from this metal still, many of the plants showed symptoms of molybdenum deficiency.)

Only one plant was grown in each 10-liter jar. At the first indication of boron-deficiency symptoms, all plants except checks (untopped normal and minus boron), were topped and suckered and samples taken for analysis. The data for this initial sampling therefore reflects the effect almost entirely of mutilations only. Suckers were removed during the six weeks of subsequent growth and discarded. Subsequent samplings were made 2, 4, and 6 weeks later.

Yield determinations with the plants were according to the following procedures. In the greenhouse the dops and roots were separated, the leaves stripped from the stalk, weighed and placed in a paper bag. Stalks were weighed and bagged separately. The partially drained roots were dried with a towel to remove extraneous water and weighed, then bagged separately. Each sample when ready was immediately brought to the laboratory, reweighed and reduced to proper representative sample size. The laboratory weights are those tabulated. The short preliminary draining of the roots, the subsequent toweling, and the later contact with the dry bags resulted in fairly satisfactory weights for the roots. Sampling began at 7 a.m. in the spring experiments, and 8 a.m. in the fall, and was usually completed in four hours.

A detailed description of the methods used in reduction of size of sample to a quantity usable for total-alkaloid determination has been given in a previous publication [6]. Moisture determinations of these green samples were also made.

EXPERIMENTAL RESULTS

Table I shows the effects of topping and suckering normal and minus-boron tobacco on green weights and alkaloid content of fall-grown plants. Relative percentages of green weight and alkaloid in the organs of each plant (percentage partition between parts) with each treatment have also been computed from these values. The latter values are not shown in order to cut down size and number of tables.

Green weight of stalk and alkaloid content of all parts of the untopped normal plant increased approximately 5-fold during the six-week growth period, except for leaf and root weights which were less than doubled. On a relative basis percentage of leaf in the plant decreased from 65 percent to 38 percent, while stalks increased from 20 percent to 51 percent, and root percentage remained

TABLE I

Effects of topping fall-grown Connecticut Broadleaf tobacco in water culture with and without adequate boron supply on yield (fresh weight) and alkaloid content (T.A.) of plant organs*

Treatment	Time after topping	Leaf		Stalk		Root		Total	
		Yield	T.A.	Yield	T.A.	Yield	T.A.	Yield	T.A.
	weeks	g	mg	g	mg	g	mg	g	mg
Control, untopped	0	255	13.0	81	5.8	54	6.1	390	24.9
	2	423	44.4	251	3.8	57	14.9	731	63.1
	4	405	96.2	378	6.2	85	25.6	869	127.7
	6	292	58.7	388	23.3	85	35.7	765	117.7
Control, 6 leaves	0	126	20.5	35	3.8	36	4.6	196	28.9
	2	396	621.7	93	70.7	82	76.1	570	768.4
	4	431	961.1	110	187.0	133	137.0	674	1285.1
	6	338	990.3	115	184.0	151	134.1	604	1308.4
Control, 4 leaves	0	124	16.0	35	3.7	36	14.5	194	34.2
	2	335	519.3	63	53.1	60	88.4	458	660.7
	4	395	1271.9	87	122.2	126	97.3	608	1491.5
	6	377	1379.8	77	159.3	175	118.3	629	1657.4
Control, 2 leaves	0	54	8.0	21	2.4	25	2.9	100	13.4
	2	169	263.6	45	28.3	57	29.8	272	321.7
	4	267	1094.7	81	122.6	106	114.5	454	1331.8
	6	255	1045.5	63	59.2	120	106.3	438	1211.0
Minus boron, untopped	0	95	15.0	17	4.2	11	2.2	123	21.3
	2	155	206.2	23	24.3	22	10.4	200	240.8
	4	115	174.8	23	31.1	21	7.1	160	213.0
	6	143	340.3	31	72.9	37	23.0	211	436.2
Minus boron, 6 leaves	0	102	17.0	23	7.4	13	1.7	139	26.1
	2	163	135.0	34	28.8	18	9.8	215	173.6
	4	140	226.8	26	41.0	27	11.4	193	279.2
	6	100	178.5	29	36.5	27	9.9	155	224.8
Minus boron, 4 leaves	0	80	11.9	14	4.7	12	2.9	107	19.5
	2	108	141.5	22	31.3	17	13.8	148	186.6
	4	64	173.4	24	32.2	20	5.0	114	210.6
	6	94	181.3	28	45.3	36	18.3	149	244.8
Minus boron, 2 leaves	0	46	8.8	15	6.4	11	2.6	71	17.7
	2	74	130.1	19	23.9	15	9.0	107	163.0
	4	76	290.7	25	36.8	21	20.2	122	347.7
	6	13	174.0	20	13.5	17	22.0	50	209.5

* All pruning of plants was done on the same day; namely, that on which the first indication of boron deficiency could be detected in a minus-boron plant.

approximately constant. Relative distribution of alkaloid between leaf, stalk, and root of the plant was affected only slightly during the six-week growth period.

Decapitation and prevention of branching of the normal plant led to a somewhat lower yield increment as compared to the untopped and unsuckered plant. Root yields increased about 5-fold and weighed more than those of the untopped and unsuckered plants. Increases in alkaloid greatly exceeded those of the untopped plants, and ranged from 50- to 100-fold in leaf and stalk over the six-week growth period. Proportion of leaf remained constant or decreased, while proportion of stalk in the plant decreased with age, whereas that of the root increased. The proportion of alkaloid in the leaf increased somewhat or remained unchanged, that in the stalk decreased and that in the root increased. Topping decreased the proportion of alkaloid retained by the root from about a fourth to about an eighth of that present in the whole plant.

The pattern during growth of the boron-deficient plants was quite unlike that of the normal plant, but quite like that of the topped and suckered normal plant. Some differences were present, however, since the minus-boron plant was of abnormal and less vigorous growth. Growth of parts was quite moderate. Alkaloid increased only about 3- to 20-fold, the leaf having the maximum value and the root the minimum. Leaf proportion in the minus-boron plant remained unchanged, stalk decreased and root increased during the growth period. The proportion of alkaloid in the leaf of untopped minus-boron plants increased and those of stalk and root decreased during the two weeks after data of topping.

Pruning of the minus-boron plant caused no alteration in pattern except for an apparent intensification of effect with extreme topping. Relative proportion of leaf during growth remained unchanged, while stalk decreased and root increased. Concentration of alkaloid in the pruned minus-boron plants reached a somewhat higher level than that in normal plants after pruning.

The effects of similar treatments with spring-grown plants on growth and alkaloid increments, and on the relative effects in plant parts, are shown in Table II. It is apparent that the patterns of responses with spring-grown plants were quite similar to those with fall-grown plants. The more vigorous growth of the normal plants in spring than in fall and the greater quantities of alkaloid synthe-

TABLE 11

Treatment	Time after topping	Leaf		Stalk		Root		Total	
		Yield	T.A.	Yield	T.A.	Yield	T.A.	Yield	T.A.
	months	g	mg	g	mg				
Control, unpruned	2	226.8	24.5	55.9	4.2	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	2	449.6	57.6	204.3	8.1	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	4	465.6	110.5	357.3	16.6	132.6	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	6	462.5	137.5	428.7	25.7	134.5	30.8	[illegible]	[illegible]
Control, 4 buttons	2	185.1	20.3	59.3	5.5	24.7	4.3	[illegible]	[illegible]
	2	396.6	553.1	97.7	67.9	149.5	120.4	[illegible]	[illegible]
	4	376.6	446.5	198.5	128.5	124.5	61.9	[illegible]	[illegible]
	6	345.7	1064.7	136.1	114.3	286.5	196.7	[illegible]	[illegible]
Topped, 4 buttons	2	99.1	14.4	31.2	2.7	27.3	4.3	158.1	21.9
	2	281.6	548.5	56.3	52.1	80.0	57.4	420.9	652.3
	4	336.5	1274.5	67.3	75.2	130.0	165.0	573.9	1514.9
	6	345.1	1729.5	61.3	113.3	146.5	176.7	552.9	2024.5
Topped, 4 buttons	2	51.5	8.6	21.6	1.8	21.2	4.4	94.2	[illegible]
	2	159.5	467.5	29.4	[illegible]	69.2	68.1	260.1	[illegible]
	4	277.5	1296.5	44.3	65.2	[illegible]	84.8	[illegible]	[illegible]
	6	261.3	1452.5	[illegible]	[illegible]	[illegible]	230.5	[illegible]	[illegible]
Boron deficient, unpruned	2	121.5	23.5	[illegible]	3.8	12.2	[illegible]	[illegible]	44.2
	2	259.5	269.6	[illegible]	16.8	23.1	[illegible]	[illegible]	129.9
	4	41.0**	183.5	[illegible]	20.4	11.2	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	6	250.7	393.3	[illegible]	42.3	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
Boron deficient, 4 buttons	2	102.6	26.4	[illegible]	1.2	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	2	177.2	211.1	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	4	116.9**	178.7	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	6	315.3	476.1	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
Boron deficient, topped, 4 buttons	2	74.2	17.9	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	2	187.0	262.2	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	4	22.2**	168.5	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	6	141.7	364.1	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
Boron deficient, topped, 4 buttons	2	30.5	4.5	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	2	103.9	223.6	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	4	51.2**	230.0	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
	6	119.2	781.9	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

* [illegible] of leaves and roots on the stalk [illegible] that no more [illegible] of boron deficiency could be detected in a minus-boron plant.

** Plants which had any dead leaves were selected for harvesting.

sized did not cause an alteration of pattern of response to treatment. Actually, the patterns of response to treatment were intensified in most cases. The curtailment in top growth in untopped minus-boron plants was greater than that in the normal plants topped to two leaves.

The patterns of response are more easily apparent in Table III, which is a condensed summary of the average values for both experiments. The table shows the distribution of yield and alkaloid in the leaf, stalk, and root of the plant with treatment. Each value is the average for three plants grown for 2, 4, and 6 weeks (after topping when so indicated).

TABLE III

Relation between height of topping and the relative yields and nicotine contents per plant in leaf, stalk, and root of Connecticut Broadleaf tobacco*

Treatment*	Leaf				Stalk				Root			
	Green wt.		Nicotine		Green wt.		Nicotine		Green wt.		Nicotine	
	Fall	Spr.	Fall	Spr.	Fall	Spr.	Fall	Spr.	Fall	Spr.	Fall	Spr.
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Controls												
untopped	52	48	62	64	38	37	14	12	10	15	24	24
6 or 8 leaf**	63	58	76	73	17	21	13	13	20	21	11	14
4 leaf	66	63	78	79	16	14	10	8	18	23	12	13
2 leaf	58	58	78	75	18	15	10	12	24	27	12	13
Minus boron												
untopped	74	75	74	79	14	15	16	14	12	10	10	7
6 or 8 leaf**	72	77	76	79	16	13	19	13	12	10	5	8
4 leaf	67	67	73	76	17	17	19	16	16	16	8	8
2 leaf	56	65	74	75	25	18	17	14	19	17	9	11

* Total yield and alkaloid of the plant, each taken as 100 percent.

** Plants pruned to 6 leaves in fall experiment, and 8 leaves in spring.

There was good agreement between the fall and spring experiments as concerns the percentage distribution of weight and alkaloid in the plant. This summary affords a satisfactory means of comparing the effects shown by normal and minus-boron plants. Proportion of leaf in the normal plants remained approximately constant with degree of topping, whereas that in the minus-boron plants decreased. Stalk responses in the two types of plants were opposite, in that normal plants became progressively lower in proportion of stalk, whereas that of the minus-boron plants increased. Root proportion in the plant increased with degree of topping in both normal and minus-boron plants. The proportion of nicotine in the leaves was

greater and in the roots less in the topped normal plants than the untopped. It did not differ appreciably among the minus-boron plants whether manually topped or not. Apical growth at time of topping had nearly ceased in the minus-boron plants.

TABLE IV

Distribution of total alkaloids in Connecticut Broadleaf tobacco resulting from topping and suckering and from boron deficiency (oven-dried, 80°C).

Plant part	Normal				Minus boron			
	Untopped		Topped		Untopped		Topped	
	Yield	T.A.	Yield	T.A.	Yield	T.A.	Yield	T.A.
	g	mg	g	mg	g	mg	g	mg
Leaf	43.56	53.0	33.82	541.2	37.88	333.2	38.57	306.0
Stalk	71.18	29.3	15.97	101.4	9.59	78.8	9.05	70.1
Root	11.63	33.3	10.01	55.4	6.04	37.2	4.59	27.6
Total	126.37	115.6	59.79	698.0	53.51	449.2	52.19	403.7
Non-fibrous root	7.45	20.3	3.70	16.3	1.99	8.1	1.04	3.9
Fibrous root	4.18	12 9	6.31	39.1	4.05	29.1	3.55	23.7
T.A. fibrous root*	27.7		110.6		110.9		113.5	

* Milligrams total alkaloid in plant divided by grams dry-weight of fibrous root.

The results of an experiment in which observations were made on oven-dried plants (80°C) are given in Table IV. Emphasis, here, is on type of root growth. The yield and alkaloid responses were quite similar to those already discussed. Fibrous root weights were used as a substitute for root-tip counts, since actively branching roots are essentially fibrous. Examination of the root data reveals that, even when root increase in weight is absent, a change in root morphology, paralleling increased alkaloid production, takes place. That is, fibrous root proportions increase while non-fibrous decrease when plants are topped. A marked difference is also shown by these two types of roots in response to topping. The T.A./root ratios are reversed on topping in both normal and minus-boron plants. The total alkaloid/fibrous root ratio (mg/g) was much larger with topped than untopped normal plants, but differed little with minus-boron plants whether topped or untopped.

DISCUSSION

Of the specific questions for inquiry stated in the introduction, the data obtained would indicate that topping and suckering of the

plant result in increased root branching and often in size. More important than the increase in root weight is the increase in proportion of root branching when top pruning is employed. The large increases in alkaloid synthesis that took place following topping with both normal and untopped minus-boron plants occurred whether total yield of root increased or not. Actually, plants with smaller roots but having a larger proportion of branching fibrous growth had a greatly enhanced nicotine content as compared to untopped plants. Weight of fibrous roots is used as a substitute for root-tip counts though the relation between these responses is certainly more or less variable. It would seem, therefore, that while yield of alkaloid is probably related to amount of root, a real enhancement of synthesis is closely related to branching and fibrous root production. Fibrous root formation increased with topping in normal and minus-boron plants, as did alkaloid content.

Another objective of these experiments was to determine whether the acceleration of fibrous-root growth and greatly enhanced alkaloid content in minus-boron plants could be explained on the basis of pruning alone. While the level of alkaloid concentration in minus-boron plants was higher at times than in normal topped plants, no real evidence of a specific difference was apparent. The slight divergencies found between the two types of plants are such as would be expected between normal and abnormal nutrition. Boron deficiency, it must be concluded, led to "natural" topping and suckering, and morphological changes of the root similar to those found in the normal plant after manual topping. Enhanced alkaloid synthesis was characteristic of this modification of root growth. It would appear probable that root branching bears a causal relation to enhanced nicotine formation in both types of plants, inasmuch as the root is known to control alkaloid formation.

Duration of growth after topping and height of topping brought analogous responses with normal and minus-boron plants. It may be surmised that the basis of response is the same in both cases. This basis is an increase in supply of metabolites available for root growth and branching. Topping and suckering, in effect, eliminates practically all dividing tissues in the plant excepting only in the root.

An estimate of loss in alkaloid through discard of roots at harvest can be obtained from these data. It amounts to, on the average about 12 percent of alkaloid present in the whole topped plant.

Individual plants gave values in some instances as high as 17 percent. Roots of untopped plants retained as much as one-third of the alkaloid present.

SUMMARY

Connecticut Broadleaf tobacco plants were grown in water culture during fall and spring, both with and without an adequate level of boron. Topping to different heights, and suckering, took place at the onset of boron-deficiency symptoms. Harvesting dates were at time of topping and 2, 4, and 6 weeks after topping. Both normal and minus-boron plants were handled in an identical manner, though the symptoms of boron deficiency were equivalent, in part, to manual topping and suckering. The green weight and alkaloid content were determined for the green plant as a whole, and for leaf, stalk, and root separately.

Yield and quantity of alkaloid increased, within limits, with duration of growth after topping. Decreased height of topping in control plants led, within limits, to increased synthesis of alkaloid, while final yields remained approximately constant. Within limits, the lower the topping, the greater the compensatory after-growth. Some leaves increased as much as 2-fold in length (31 × 18 inches).

Topping and suckering led to greatly enhanced synthesis of alkaloid, root branching, and formation of fibrous roots in the controls. Similar responses were given by all minus-boron plants whether manually topped or not. No evidence was obtained of an essential difference between manual and „natural" (—B) topping and suckering, except that the latter plants were abnormal in other respects. Topping decreased proportion of alkaloid in the root from one of about 24% to one of 12%. That is, transport of alkaloid from root to top was greatly increased by topping. It was concluded that both manual and natural pruning (topping and suckering) promotes synthesis of alkaloid by increasing root growth, especially branching.

ACKNOWLEDGEMENT

We wish to express our appreciation for the aid of Mr. W. H. Eoff for the sampling and alkaloid determinations.

Received November 29, 1956.

LITERATURE CITED

1 Berthold, Th., Effect of topping and suckering on development of the tobacco plant. Connecticut Expt. Sta. Bull. 326, pp. 398–410 (1930).

2 Garner, W. W., The production of tobacco. Rev. Ed. 520 pp. Illus. The Blakiston Co., Philadelphia (1952).

3 Garner, W. W., Bacon, C. W., Bowling, J. D., and Brown, D. E., The nitrogen nutrition of tobaco U.S.D.A. Techn. Bull. No. 414. 77 pp. (1934).
4 McMurtrey, J. E. Jr., Bacon, C. W. and Ready, D., Growing tobacco as a source of nicotine. U.S.D.A. Techn. Bull. No. 820. 38 pp. (1942).
5 Steinberg, Robert A., Symptoms of molybdenum deficiency in tobacco. Plant Physiol. **28**, 319–322 (1953).
6 Steinberg, Robert A., and Jeffrey, R. N., Effect of micronutrient deficiencies on nicotine formation of tobacco in water-culture. Plant Physiol. **31**, 377–382 (1956).

Plant and Soil IX, no 1 September 1957

THE RELATIONSHIP OF THE SIZE AND STRUCTURAL RIGIDITY OF PORES TO THEIR PENETRATION BY ROOTS

by L. K. WIERSUM

Institute for Soil Fertility, Groningen, the Netherlands

INTRODUCTION

Although under favorable conditions a plant may develop a more or less characteristic root system, unfavourable conditions in the soil can bring about marked alterations in the form of the root system. Shallow rooting can be the consequence of a number of different factors, acting either separately or together. The mechanical resistence of the soil is one of the factors which is not infrequently claimed to be responsible for restriction of root penetration. This is also the case in a recent series of papers – the results of which have been summarized by Goedewaagen [3] – where the suggestion is made that mechanical resistance of the sand subsoil may be a contributory factor in the restriction of root penetration below the loam topsoil. However, a clear definition of this term is usually lacking although it may be obvious what is meant in many cases, *e.g.* in case of the occurrence of an indurated sub-surface pan.

One of the difficulties in evaluating this factor is the close similarity of the effects of soil density, excess moisture, and poor aeration. Furthermore a dense soil is usually poorly aerated and may often contain an excess of moisture. The object of the present studies has been to obtain data which could lead to a better understanding of mechanical resistance in its strict sense. This seems to be all the more important since Pfeffer [6, 7] had already given data on the very high pressures which can be exerted by the root tip in 1893. However, it was only quite recently that Gill and Miller [2] extended these early investigations by measuring the mechanical

resistance that could be overcome by young roots. In the experiments to be described below, attention was paid primarily to the ability of young roots to penetrate pores of various sizes. The effect of rigidity of the pore structure was also taken into consideration.

A. THE ABILITY OF ROOTS OF VARIOUS DIAMETER TO PENETRATE PORES OF VARIOUS DIAMETERS

Experimental method

Sintered glass-filter discs having different pore-diameter ranges were used in the experiments. The filter discs were 6 cm in diameter and about 4 mm thick. The diameter of the pores varied from 500–200 μ, 205–150 μ and 150–90 μ. The pores in these discs are very irregular in shape and should closely resemble the pore structure in soil.

Six filter discs were laid on top of a shallow layer of moist sawdust in a wide enamelled container. Seeds of the species to be investigated were spread on top of the discs (Fig. 1). The container was

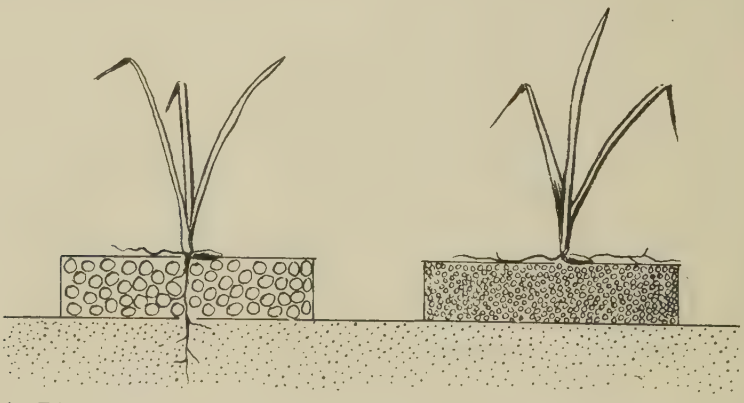


Fig. 1. Diagram of the differing root penetration on coarse and fine discs.

covered by a sheet of glass and put into a small glass-walled moist chamber. When the young seedlings started to grow the sheet of glass was removed.

In order to be able to investigate roots of a higher order of branching, root formation by cuttings was induced by placing a shallow plastic ring filled with coarse sand on top of the discs (Fig. 2).

Some 2–3 weeks after the start of an experiment the discs were

carefully lifted from the layer of sawdust and washed clean of adhering sawdust particles. The roots penetrating the filter discs

Fig. 2. Young seedlings growing in sand placed in plastic rings on top of the filter discs.

were counted. The diameters of a number of the roots which had grown through the filter discs and of a number of roots which had remained on top of the filter discs were measured.

Results

The results of the observations are shown in Table I.

The data obtained clearly demonstrate that a root is only able to penetrate a pore which has a diameter exceeding that of the young root. The observations also clearly point to the fact that the plasticity of the young root tip does not enable the root to pass through a narrow pore by means of a short constricted zone. This is underlined by the fact that many root tips may grow into small cavities in the rough surface of the discs, but further penetration is then prevented if the pore is smaller in diameter than the root. Under these conditions the root mat clings strongly to the filter discs. In the case of the much smoother surface of the discs with the smallest pores the root mat is only loosely adherent.

TABLE I

Penetration of pores of different sizes by roots of different diameters				
Species	Diameter of roots in μ	Diameter of pores in filter discs		
		500–200 μ	205–150 μ	150–90 μ
Portulaca grandiflora	125–210	+	+	+
Holcus lanatus	70–290	+	+	—
Holcus mollis	110–230	+	+	—
Brassica oleracea	130–400	+	+	—
Brassica rapa	170–400	+	+	—
Cheiranthus annuus	ab. 200	+	—	—
Lepidium sativum	130–300	+	—	—
Avena sativa	150–380	+	—	—
Bromus racemosus	190–410	+	—	—
Tagetes patula	210–400	+	—	—
Trifolium pratense	250–440	+	—	—
Linum usitatissimum	250–500	+	—	—
Ipomoea purpurea	270–525	+	—	—
Helianthus annuus	270–530	+	—	—
Solanum lycopersicum	310–380	+	—	—
Spinacia oleracea	340–640	+	—	—
Lathyrus odoratus	610–715	+	—	—

Although the tabulated results nearly all relate to primary roots and first order laterals, it seems justifiable to extend the conclusion to the thinner laterals of higher order.

B. INFLUENCE OF RIGIDITY OF PORE STRUCTURE ON ROOT PENETRATION

The influence of pore size and root diameter on root penetration established in the previous section can only exist if there is a complete rigidity and fixation of the solid particles. Observations in the field and in experiments clearly indicate that many roots can be encountered in soil layers which, on account of their particle size and poor aggregation, have pore sizes below the limit of root diameter. It has long been the accepted explanation that the roots have forced their way through by pushing aside the obstructing particles. This explanation may appear obvious, but not until quite recently was it demonstrated experimentally by Gill and Miller [2]. It therefore seemed worthwhile to provide some additional experimental evidence for this mechanism.

Experimental method

In these experiments pore size could be varied by using different sand fractions of known particle size. The rigidity of the pore structure could be regulated by using glass tubes of different diameters — 5, 8, 10, 15 and 20 mm — as culture vessels.

The glass tubes were about 18 cm long with a wider cup at the top (fig. 3). They were filled with sand of different particle sizes: 1200–850 μ, 850–600 μ, 600–420 μ, and 300–210 μ. The lower end was

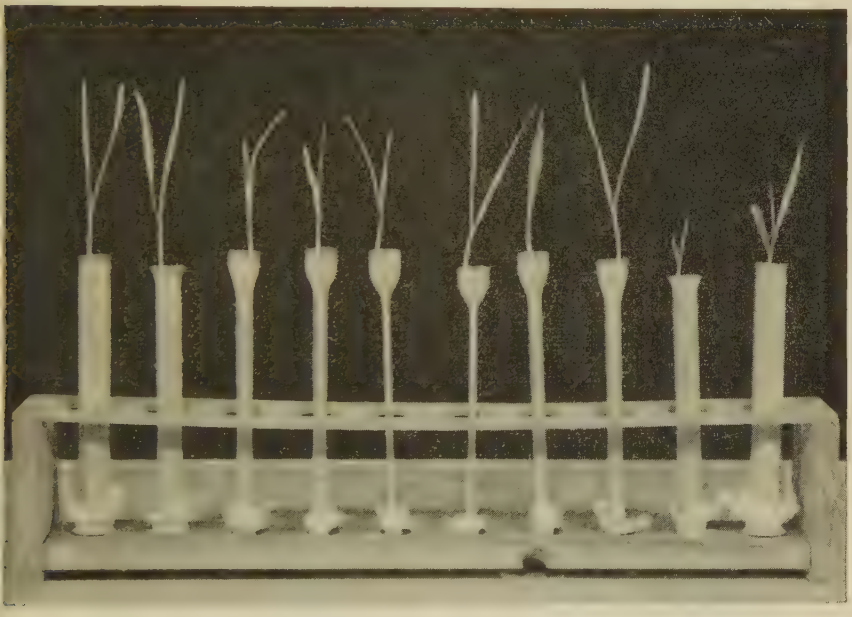


Fig. 3. Two sets of tubes, of varying diameter, filled with coarse and fine sand respectively, in which young oat plants are growing.

closed with a piece of cloth. Pregerminated seeds were placed in the wider top part of the tube. The sand was watered with a nutrient solution and any excess drained away freely, thereby ensuring adequate aeration of the roots.

During the course of the experiments groups of tubes were examined at intervals ranging from 2–4 weeks after the commencement of the experiment. After noting the depth of penetration of the roots visible from the outside of the tube, the sand was carefully washed out of the tubes and the exact depth of rooting ascertained.

Results

The results obtained with *Avena* and *Brassica* seedlings are shown in Table II.

TABLE II

Depth of root penetration (mm) in relation to rigidity of pore structure
Averages of 3 observations

Species	Size range of sand particles	Diameter of tube in mm				
		5	8	10	15	20
Avena sativa	850–600 μ	2	7	10	33	46
Brassica rapa	300–210 μ	0	5	10	45	20

It is evident that the roots are able to penetrate to greater depths in the wider tubes. In the narrower tubes the restricted mobility of the sand particles does not allow the roots to force the sand aside and widen the pores.

A confirmation of the increasing rigidity of the pore structure could be obtained by pushing a very thin steel wire into the tubes. The wire could be forced down to the bottom in the tubes 20 and

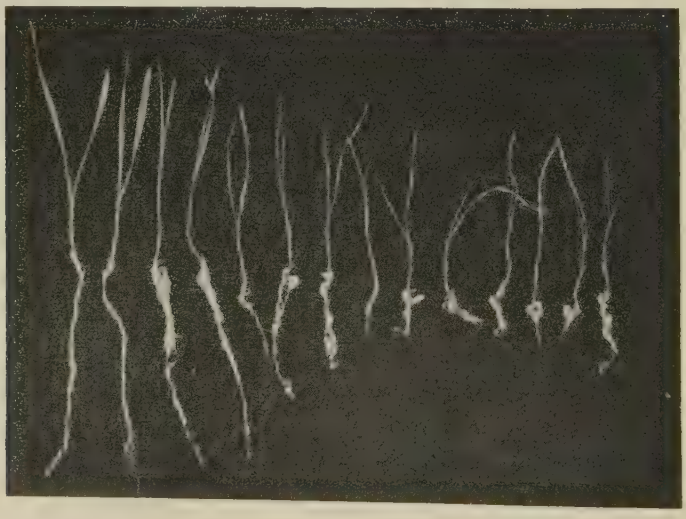


Fig. 4. Depth of root penetration of oats grown in coarse sand of varying rigidity of pore structure.

15 mm wide. In the narrowest tubes, ⌀ 5 mm, the wire could only penetrate the sand for a few mm. In the tubes of intermediate diameter, penetration from 1–5 cm was possible.

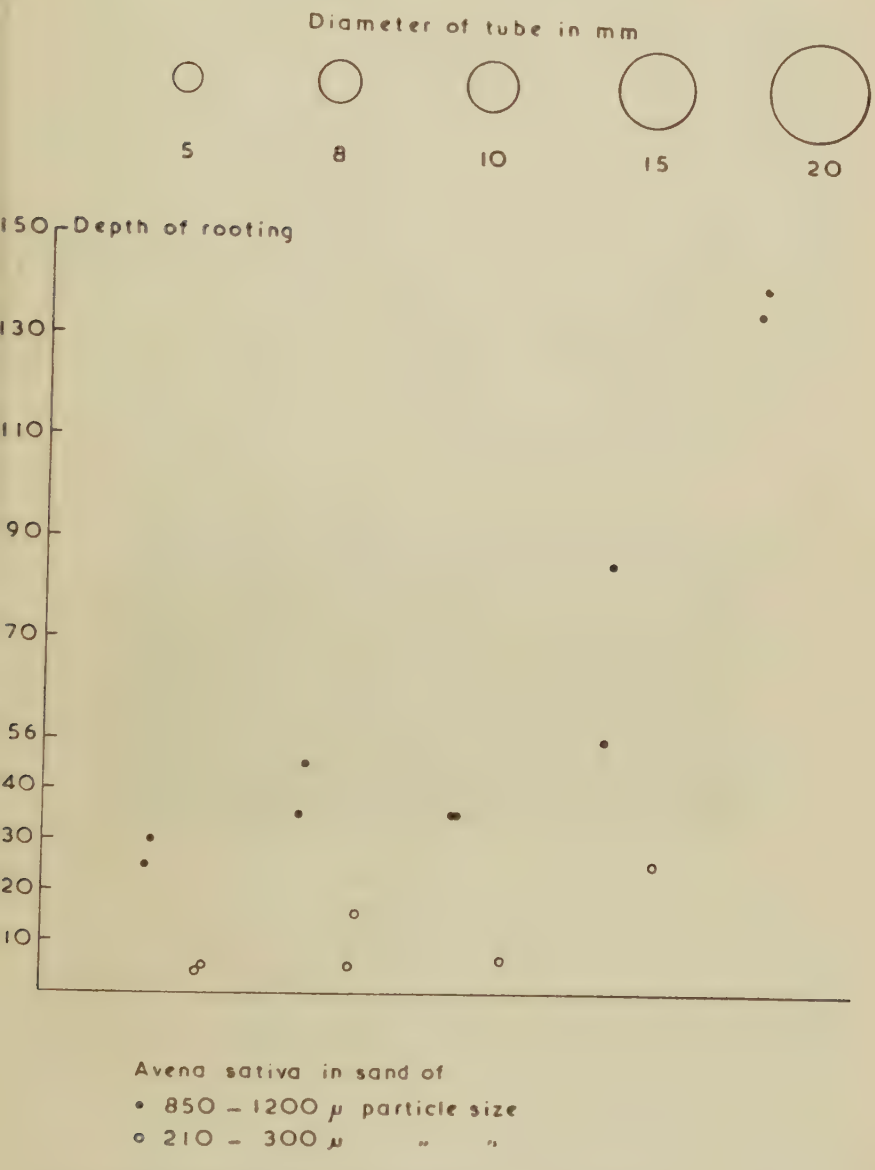


Fig. 5. Penetration of oat roots (in mm) in tubes of different diameter.

Thus it may be concluded that the rigidity of the pore structure is also a factor governing mechanical resistance to root penetration. As long as the young root can displace soil particles it will be able to force a passage even if the original pores are too narrow.

The interaction between pore diameter, rigidity of pore structure, and root penetration is clearly demonstrated by some results from experiments with oats (Fig. 4). In the coarse sand — 1200–850 μ — pore size is just sufficient to allow penetration by the narrower roots. Although the roots grow into the narrow tube the depth of penetration increases as rigidity of pore structure diminished (Fig. 5). In the fine sand, penetration is completely governed by rigidity and consequently root penetration is much less. However, penetration still increases as the width of the tubes increases.

The interpretation given above is confirmed by the appearence of the roots themselves (Fig. 6). In the coarse sand the root system

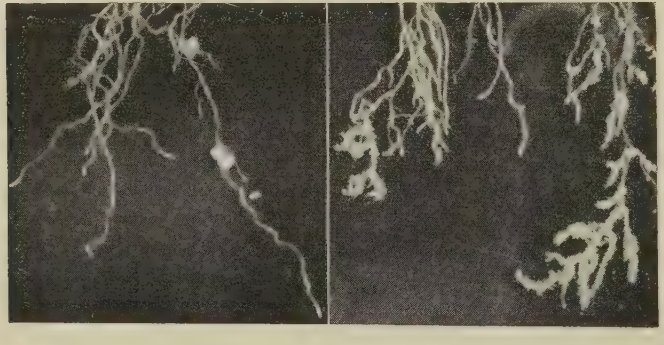


Fig. 6. Root tips of oats grown in coarse and in fine sand, showing curvature and dense branching in the latter.

shows no characteristic features, but in the fine sand the profuse branching close behind the root tips and the wrinkled surface of the root tip clearly demonstrate that growth has been impeded physically.

DISCUSSION

Restricted root development in the subsoil has very often been observed [12]. This may be the result of any of a number of numerous causes as the review by Winters en Simonson [13] shows. Mechani-

cal resistance is considered to be of importance in dense subsoils. The influence of factors such as insufficient aeration and excess moisture which are usually encountered in these dense and compacted soil layers has often been discussed [1, 4, 5].

Kampe [4] discussed the results of his experiments in which rye roots were able to penetrate a layer of densely compacted kaolin, whereas corn roots hardly managed to get through and pea roots not at all. This is partly related to the fact that rye has much thinner roots. In a joint publication by several Dutch investigators [3] mechanical resistance of sand subsoil is several times put forward as a factor limiting root penetration from the top layer of clay soil into the sand. Veihmeyer and Hendrickson [9] describe field observations in which further penetration by roots is prevented by soil-density, *i.e.* where the apparent specific gravity rises to 1.8 or more. This, however, is also determined by the nature of the substrate as in a second publication [10] they show that the limit for sand may be 1.75 and for clay 1.46–1.63. Similar observations have been made by Bertrand and Kohnke [1] and in Groningen.

If a root diameter of about 200 μ is accepted as an average for roots having to grow into the subsoil for some distance, a rough calculation shows that a sand with a single grain structure will have pores below the limiting size when the particles become smaller than about 800 μ. As many sands consist partly or wholly of smaller particles, pore size should indeed be able to inhibit root growth in many instances. If, however, the sand is mixed with clay or humus it will have a crumb structure which results in the occurrence of larger pores between the granules. This is confirmed by the fact that in these cases inhibition of root penetration is seldom observed.

There are, however, many fine sands which are thoroughly permeated by roots. In these cases roots have been able to force their way down between the particles. This should not surprise us, as Pfeffer [6] has already measured the force a single root can exert. Pressures in the range of 5-24 atm. have been noted as being exerted by the root tips of the primary root of germinating seeds of such species as *Vicia faba, Zea Mays* and *Aesculus hippocastanum*. The forces acting in a radial direction can also be of the order of several atmospheres.

Gill and Miller [2] have extended out knowledge on this problem. They devised an apparatus to grow the roots of young seedlings

in a thin layer of glass beads each 50 μ in diameter. The ease with which these beads could be pushed aside by the growing root was regulated by exerting various pressures on a thin membrane covering the substrate. As the mechanical resistance in the medium increases root growth slows down and at last is stopped. Although it is not possible to calculate the pressures operating at the root surface their results show a close agreement with those of Pfeffer. They also managed to demonstrate that the ability to overcome mechanical resistance is related to the amount of oxygen in the medium.

The fact that the rigidity of the pore structure is a second factor regulating root penetration has also been demonstrated in the experiments described in the previous section. The same conclusion may be reached from experiments described by Veihmeyer and Hendrickson [10] in which root growth was not obstructed in soil puddled with water, whereas root growth was hindered in soil of the same density which had been compacted in a less moist state. It is conceivable that in the moisture-saturated puddled soil the rigidity is far less than in the case of the densely compacted sample where cohesion between the particles had not been destroyed.

The most rigid structures are encountered in hard-pans, especially if they contain iron compounds. In extreme cases they can be completely impermeable. Roots will not grow into these structures at all unless cracks or channels are present [14].

From these experiments it has been concluded that the young root cannot force its way through a narrow pore by means of a localized constriction. This must not be confused with the fact that older roots can show constricted zones as a result of inhibited secondary growth in hard soil layers, as has been described by Taubenhaus *et al* [8].

Everything considered it must be concluded that the purely physical resistance of a fine and dense soil can restrict root growth. The second factor is the rigidity of the pore structure, which will itself be regulated by several factors. One of these will be the depth at which this layer is located in the soil. Another factor affecting rigidity may be the moisture content of the layer in question. Visser and Goedewaagen [11] noticed that roots of flax could penetrate a dense subsurface layer in a loam soil early in the spring when the soil was still moist and plastic. Later on the same layer

hardened as a result of desiccation. This prevented penetration by other roots growing downwards more slowly. However, it is often very difficult to distinguish the influence of this factor from the effect of the effect of other correlated factors under field conditions.

SUMMARY

An experimental procedure has been developed to demonstrate that young roots only pass through pores of a size exceeding the diameter of the root tip. Mechanical resistance to root growth is therefore a factor limiting root development in fine and densely compacted soil layers.

The importance of the rigidity of the pore structure in inhibiting root penetration has also been demonstrated experimentally.

The findings are compared with other observations in the literature on this subject. Attention is drawn to the fact that it is usually difficult to be certain of the importance of mechanical resistance in the field on account of the close similarity of its effect with those of excess water and insufficient aeration.

Received January 24, 1957.

REFERENCES

1 Bertrand, A. R. and Kohnke, H., Subsoil conditions and their effects on oxygen supply and the growth of corn roots. Agron. Abstr. †, †††–††† (1955).
2 Gill, W. R. and Miller, R. D. A method for study of the influence of mechanical impedance and aeration on the growth of seedling roots. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **20**, 154–157 (1956).
3 Goedewaagen, M. A. J., Berg, C. v. d., and Bosch, D. v.d., Butijn, J. J., Schaaf, D. v. d., and Schuurman, J. J., Root development in soils consisting of a top layer of clay and a sandy subsoil. Verslag Landbouwk. Onderzoek. **61.7** (1955).
4 Kampe, K., Studien über Bewurzelungsstärke und Wurzeleindringungsvermögen verschiedener Kulturpflanzen. Wiss. Arch. f. Landwirtsch. Pflanzenbau **2**, 1–49 (1929).
5 Moon, J. W., Some field observations of the agronomic significance of compact subsoils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **3**, 237–241 (1938).
6 Pfeffer, W., Druck- und Arbeitsleistung durch wachsende Pflanzen. Abh. math.-phys. Class. Kön. Sächs. Ges. Wiss. **20**, 235–475 (1893).
7 Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie, Bd. II; Kraftwechsel (1904).
8 Taubenhaus, J. J., Ezekiel, W. N., and Rea, R. E., Strangulation of cotton roots. Plant Physiol. **6**, 161–167 (1931).
9 Veihmeyer, F. J. and Hendrickson, A. H., Soil density as a factor in determining the permanent wilting percentage. Soil Sci. **62**, 451–457 (1946).
10 Veihmeyer, F. J. and Hendrickson, A. H., Soil density and root penetration. Soil Sci. **65**, 487–495 (1948).
11 Visser, W. C. and Goedewaagen, M. A. J., Een onderzoek naar bodemstruktuur en wortelontwikkeling. Landbouwk. Tijdschr. **55**, 405–433 (1943).
12 Weaver, J. E. and Clements, F. E., Plant Ecology (1938).
13 Winters, E. and Simonson, R. W., The subsoil. Adv. Agron. **3**, 1–93 (1951).
14 Yeatman, C. W., Tree root development on upland heaths. Forestry Comm. Bull. no 21, London (1955).

Plant and Soil IX, no 1 September 1957

SULPHUR AND NITROGEN CHANGES IN FOREST SOILS OF EAST AFRICA

by P. R. HESSE

East African Agriculture and Forestry Research Organisation, Kikuyu, Kenya

INTRODUCTION

In view of the agricultural importance of sulphur and the almost complete lack of data concerning its distribution in East African soils, an investigation has been undertaken to determine the sulphur status of the main soils of this country.

Sulphate measurements have been completed for a considerable number of soils widely distributed throughout East Africa and have shown that except for certain well-defined areas the soils contain little or no sulphate. Areas in which sulphates have been found in quantities greater than 50 ppm SO_4–S are the arid regions of the Northern Frontier Province of Kenya, certain low-lying areas with impeded drainage, the saline deposits around salt lakes, and forest soils. All the preceding sites with the exception of forests would be expected to have soils containing concentrations of salts but the occurrence of sulphate in forest soils was unexpected. Most East African forests grow on well-drained soils which are not conducive to the retention of sulphate and furthermore, corresponding nearby agricultural soils did not show similar concentrations of sulphate.

Forest soils therefore, presented a special problem. Several soil profiles from each of 22 natural rain forests and from 6 plantation forests in East Africa have been analysed. The organic debris covering the soil and samples of the main vegetation types providing such debris have also been analysed. Resulting from these analyses a more detailed study of sulphur and nitrogen changes occurring in forest soils was made using the soils from wattle plantations at Kikuyu in Kenya.

EXPERIMENTAL

All forms of sulphur with the exception of sulphide were ultimately measured as sulphate by the method described by Chesnin and Yien[3]. Sulphate sulphur in the soils, which is the main form in which sulphur is utilised by plants, was extracted with Morgan's reagent* using a ratio of one part soil to five parts solution. If the extract was coloured it was shaken with purified, activated carbon and subsequent calculations were made from a special graph prepared by measuring standard solutions treated with activated carbon. Other forms of sulphur in the soils and vegetation were measured by methods described elsewhere (Hesse[4]). Carbon was measured by the wet oxidation method of Walkley and Black[7] and total nitrogen was determined by the semi-micro Kjeldahl procedure using a selenium-copper sulphate sodium sulphate catalyst. Ammonium nitrogen and nitrate nitrogen were extracted with *2 N* potassium chloride solution at pH 2, the ammonia being displaced by distillation with freshly ignited magnesium oxide and the nitrate subsequently reduced and displaced by the addition of Devarda's alloy.

Rainwater was collected in glass Winchester bottles which were fitted with glass funnels containing a porcelain filter to prevent contamination with solid matter. Rain which had passed through the ground litter was collected by burying a glass desiccator in the soil, covering its open top with a perforated, porcelain plate and carefully replacing the litter on top. The sites chosen for collecting rain percolating through forest litter were not directly beneath tree foliage.

RESULTS AND DISCUSSION

A general pattern of sulphur distribution was found in forest soil profiles, typical examples of which are given in Table I. In every case the topsoil contained little or no sulphate although considerable quantities of organic sulphur were present. In the subsoils on the other hand, the sulphur was present mainly in the form of sulphate. From these facts it was concluded that the organically bound sulphur in the upper layers of soil is gradually oxidised to sulphate which is then leached into the subsoil, removed by the deep-rooted trees, partly reconverted to organic forms and eventually returned to the soil as forest litter. Subsequent investigation however, has shown that an additional cycle exists in which sulphate is leached directly from the leaves to the soil.

As can be seen from the data in Table I, the fresh leaves contain

* Morgan's Reagent: Sodium acetate-acetic acid mixture buffered to pH 4.5

TABLE I

The distribution of sulphur in typical soil profiles from E. African forests

Origin of profile	Vegetation and soil	% C	% N	ppm S in oven-dry material		
				SO_4–S	Organic S	Total S
Kikuyu, Kenya. Acacia mimosa plantation	Wattle leaves	n.d.	2.54	90	860	950
	Wattle litter	n.d.	2.11	20	550	570
	Soil at 0–2″	6.9	0.81	0	355	355
	2–6″	1.0	0.14	0	120	120
	6–12″	2.0	0.23	0	185	185
	1–2′	0.5	0.07	0	105	105
	2–3′	0.4	0.06	61	75	136
	3–4′	0.2	0.05	48	55	103
	4–5′	0.2	0.04	38	55	93
	5–6′	0.1	0.04	34	0	34
	6–10′	0.1	0.03	26	0	26
	10–15′	0.1	0.03	45	0	45
	15–21′	0.1	0.03	46	0	46
Kikuyu, Kenya. Mixed plantation of *Eucalyptus globulus* and *E. maidenii*	*E. maidenii* leaves	n.d.	1.24	110	370	480
	E. globulus leaves	n.d.	1.18	130	540	670
	Mixed litter	n.d.	1.02	10	460	470
	Soil at 0–2″	6.7	0.70	0	334	334
	2–20″	1.5	0.18	0	170	170
	20–32″	0.6	0.08	57	95	152
	32–41″	0.4	0.08	85	65	150
	41–44″	0.2	0.06	63	45	108
	44–50″	0.2	0.06	25	30	55
Kinankop, Kenya	Cypress leaves	n.d.	1.90	275	720	995
	Cypress liter	n.d.	0.85	10	825	835
	Soil at 0–2″	4.0	0.70	0	750	750
	2–12″	3.4	0.46	0	430	430
	3′	3.9	0.40	4	360	364
	6′	0.7	0.11	27	40	67
	8′	0.3	0.06	56	45	101
	9′	0.2	0.11	126	25	151
	15′	0.1	0.08	34	0	34
Usambara Mts. Tanganyika. Natural rain forest.	Fresh leaves	n.d.	2.99	38	402	440
	Ground litter	n.d.	1.78	5	330	335
	Soil at 0–2″	3.4	0.35	2	388	390
	2–8″	1.9	0.22	0	371	371
	8–16″	1.0	0.13	0	357	357
	24–42″	0.4	0.07	154	112	266
	42–54″	0.2	0.03	162	20	182
	54–66″	0.3	0.05	440	64	504
	66–72″	0.4	0.04	450	34	484
Dabaga, Tanganyika. Natural rain forest	Soil at 0–4″	11.1	0.70	0	420	420
	20–24″	3.1	0.19	84	115	119
	40–44″	0.4	0.04	210	50	260
Jinja, Uganda. Natural rain forest	Soil at 0–1″	5.2	0.61	0	230	230
	1–3″	4.5	0.56	0	270	270
	3–6″	1.3	0.23	0	170	180
	6–24″	0.6	0.01	0	60	60
	24–36″	0.3	0.06	0	0	0
Fort Portal, Uganda Bamboo forest	Ground litter	10.5	1.03	0	625	625
	Soil at 0–3″	5.9	0.74	0	460	460
	3–6″	3.4	0.57	94	310	404
	6–12″	2.6	0.37	274	230	504
	12–18″	1.6	0.26	138	185	323
	18–24″	1.3	0.22	138	225	363

a considerable amount of sulphur as sulphate and the analyses of rainwater given in Table II show that the rain falling on soil under forest cover contained more sulphate (0.6 ppm S) than did the rain falling on nearby, open land (0.2 ppm S). Rainwater did not however, leach sulphate from the ground litter and it would appear that the first prolonged downpour of rain removes all available sulphate from the foliage as drips collected after three days rain contained no more sulphur than did the rain falling on open ground.

TABLE II

The sulphate-sulphur content of rainwater collected at different seasons from outside and under forest cover at Kikuyu

Period of collection	SO_4–S			
	Nov. 1955 (First rain after dry season)		May 1956 (After 3 days heavy rain)	
	ppm	lbs/acre/annum*	ppm	lbs/acre/annum*
Rain in open	0.20	1,36	0.13	0.88
Drip from wattle foliage	0.56	3.78	0.14	0.95
Drip from wattle litter	0.19	1.29	0.10	0.68
Drip from eucalyptus foliage	0.38	2.57	0.13	0.88
Drip from eucalyptus litter	0.18	1.22	0.11	0.75

* Calculated from an average, annual rainfall of 30 inches.

In order to determine the rate of sulphate production from the soil organic matter by microbial oxidation, incubation experiments were carried out using the soil and vegetation from Kikuyu wattle and eucalyptus forests. Following normal incubation procedures it was found that forest topsoil kept at 30°C under ideal conditions of moisture and aeration produced only 5 ppm SO_4–S during a period of six months whether kept in the dark or the light, and this in spite of high (300–400 ppm) organic-sulphur content. Incubation of the soil with admixtures of fresh leaves and ground litter resulted in a slightly higher production of sulphate but not to the extent expected.

Further investigation of the rate of decomposition of the soil organic matter was carried out using the respirometer technique described by Birch and Friend[2]. The experiments carried out and their analytical results are summarised in Table III. Figure 1 shows the steady, though slow, rate of decomposition of the humus in the forest topsoil compared to the rapid breakdown of fresh leaves. The initial high production of carbon dioxide from the soil

TABLE III

Sulphur, carbon and nitrogen changes in Kikuyu wattle forest soil after 30 days incubation in respirometer
(Results expressed on an oven-dry basis)

Experiment	Contents before incubation					Contents after incubation			ppm CO_2 C produced	Ratio mineralised C / mineralised N
	% C	% N	ppm NO_3–N	ppm NH_4–N	ppm SO_4–S	ppm NO_3–N	ppm NH_4–N	ppm SO_4–S		
Soil alone	5.6	0.8	6	13	0	232	8	0	1250	6
Ground litter alone	21.8	2.3	80	115	20	523	108	59	31,850	73
Wattle leaves alone	30.7	2.9	35	335	90	26	286	37	178,500	—
Soil + 10% ground litter	7.8	1.0	14	25	0	225	13	17	4282	21
Soil + 4% leaves	7.1	0.9	8	30	16	214	17	4	9600	50
Soil + aqueous extract equivalent to 2% leaves	5.6	0.8	7	21	8	217	4	4	1205	6
Soil + methionine (250 ppm S)	5.6	0.8	6	13	0	200	5	280	1665	9
Soil + cystine (300 ppm S)	5.6	0.8	6	13	0	271	15	387	1505	6
Soil + methionine (50 ppm S)	5.6	0.8	6	13	0	265	14	54	1277	5
Soil + cystine (50 ppm S)	5.6	0.8	6	13	0	266	13	78	1280	5
Soil + glycine (50 ppm C)	5.6	0.8	6	13	0	259	19	4	1302	5
Soil + $CaCO_3$ (1%)	5.6	0.8	6	13	0	241	19	0	1258	5
Soil + $CaSO_4$ (10 ppm)	5.6	0.8	6	13	10	238	18	7	1198	5
Soil + $CaSO_4$ (100 ppm)	5.6	0.8	6	13	100	292	16	197	1226	4

during the first two or three days was probably due to concentration of easily oxidisable organic matter during the dry season which rapidly decomposed on re-wetting the soil. The ground litter also decomposed far more quickly than did the soil although more slowly than did the fresh leaves.

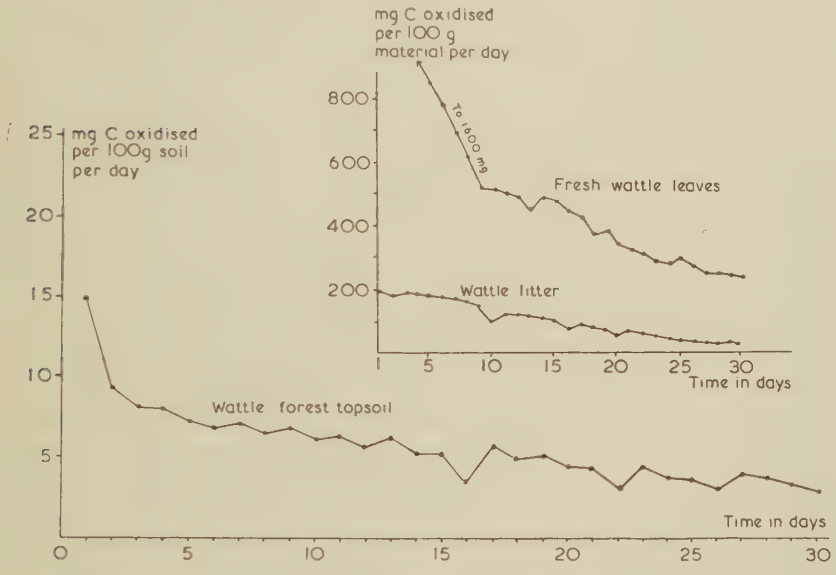


Fig. 1. Rates of decomposition of leaves, ground litter, and topsoil from a wattle plantation

During a period of thirty days 1250 ppm of carbon were oxidised in the soil and an increase of 226 ppm NO_3 N was obtained, the ammonium content remaining approximately constant at 10 ppm N; no organic sulphur on the other hand was oxidised to sulphate. The ground litter decomposed in a manner similar to that of the soil except that the rate of production of nitrate, sulphate and carbon dioxide was much higher. Thus, although the ammonium content remained fairly constant at 100 ppm N, the nitrate content increased by over 400 ppm N and at the same time 40 ppm SO_4–S were produced. The decomposition of the fresh wattle leaves involved a different mechanism as a loss of inorganic nitrogen and sulphur occurred rather than an increase.

The addition of leaves and litter to the soil modified the results of its subsequent decomposition. In both cases a loss of ammonium

nitrogen occurred from about 30 ppm N to about 15 ppm although the nitrate nitrogen produced was rather less than from the soil alone. Incubation of the soil with an aqueous extract of wattle leaves also resulted in loss of ammonia without a corresponding build up of nitrate. The sulphate added as such in the fresh leaves and their aqueous extract was mostly lost on incubation with the soil whereas the addition of ground litter resulted in the production of excess sulphate.

As can be seen from Fig. 1, the fresh leaves decompose almost to the ground-litter stage within a month. When the organic matter has reached the ground-litter stage its rate of decomposition falls off and organically bound nitrogen and sulphur are oxidised. Under natural conditions the nitrate and sulphate produced are leached away or taken up by trees which accounts for the small quantities found in the soils.

Addition of calcium carbonate had no effect upon the rate of oxidation of organic carbon, sulphur or nitrogen. Calcium sulphate added at two different levels (10 and 100 ppm SO_4–S) had no effect upon the rate of oxidation of the soil carbon. Furthermore, at the lower level of addition calcium sulphate did not affect the rates of oxidation of sulphur or nitrogen but at the higher level of 100 ppm S an excess of 97 ppm SO_4–S was produced in thirty days; that is, the sulphate content was practically doubled after one month of incubation and this was accompanied by an increase of 60 ppm NO_3–N over that formed in the untreated soil.

As a result of this observation forest soil was incubated with known additions of sulphate in combination with various cations and the results showed that within certain limits the addition of sulphate as the calcium salt results in the production of excess sulphate. The effect appears to be shown by the calcium salt only and its further study will be described in another paper.

Incubation of the soils with sulphur-containing amino acids showed that the added organic sulphur was rapidly and quantitatively broken down to inorganic sulphate. From Figure 2 it can be seen that the rate of breakdown of soil plus amino acids was consistently higher than that of the soil alone for the first ten days after which the soils all followed the same breakdown pattern. From the difference in oxygen volumes for soil incubated alone and soil incubated with amino acids over a period of ten days, the

weight of carbon in the added material which has been oxidised can be calculated. By this means the following figures were obtained:–

Methionine-carbon added	0.025%
Methionine-carbon oxidised in 10 days . .	0.028%
Cystine-carbon added	0.025%
Cystine-carbon oxidised in 10 days	0.024%

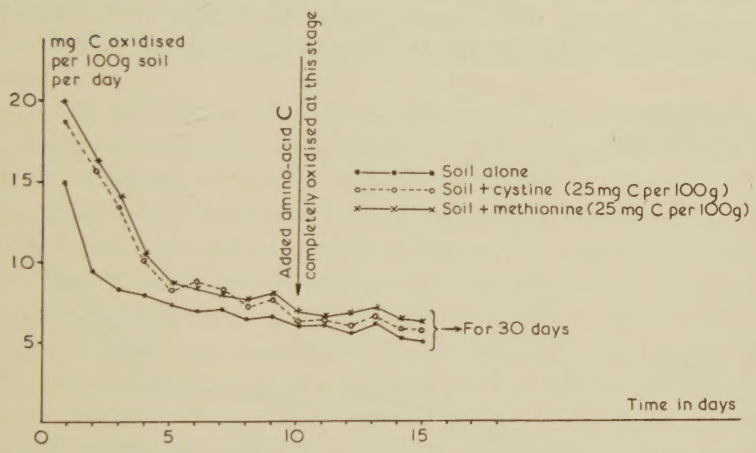


Fig. 2. Effect of S-containing amino acids on the rate of decomposition of forest soil.

Thus after ten days all the excess carbon added as amino acid was oxidised and as the graph shows, all three soils then behaved in a similar manner as regards their carbon-dioxide evolution. Sulphate measurements made after ten days showed that about three quarters of the methionine-sulphur and nine tenths of the cystine-sulphur had been oxidised. After twenty days all the amino-acid sulphur had been converted to sulphate and after thirty days an excess of sulphate had been formed.

The effect of smaller additions (50 ppm S) of methionine and cystine had no effect upon the rate of carbon-dioxide evolution but again a slight excess of sulphate was produced.

Addition of the non-sulphur-containing amino acid glycine, had no effect upon the rate of oxidation of sulphur and caused only a slight increase in nitrification. Exactly the same effect upon carbon-dioxide evolution was found as with additions of cystine and methionine, namely that carbon equivalent in amount to that added as amino acid was quantitatively broken down in about ten days.

The effect of the amino acids methionine and cystine upon nitrification was not marked when considered over a period of one month but was most noticeable over a period of fifteen days. It is known that methionine inhibits the nitrifying organisms due to toxic, intermediate breakdown products and only when these have decomposed does normal nitrification become possible. The effect of cystine is very much less marked than that of methionine (Quastel and Scholefield [6]; Jensen and Sörensen [5]).

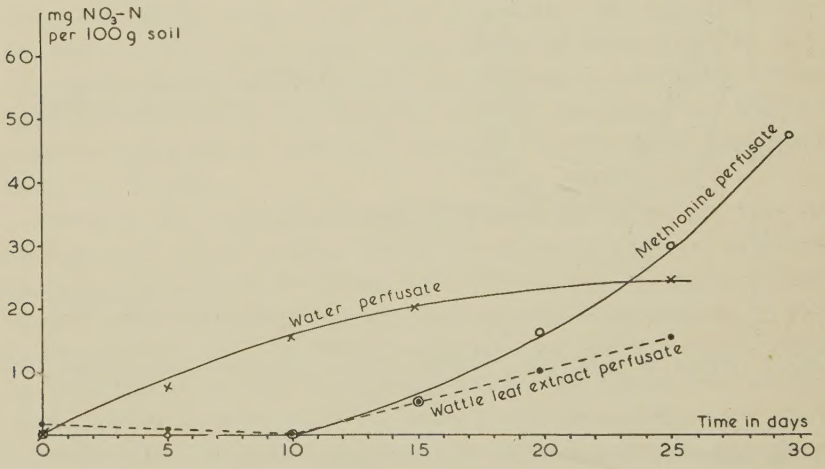


Fig. 3. Effect of methionine and aqueous extract of wattle leaves on nitrification in forest soil.

As a subsidiary experiment wattle topsoil was separately perfused with an aqueous solution of methionine, an aqueous extract of wattle leaves and with pure water. The apparatus used was the Audus modification of the Lees-Quastel soil perfuser (Audus[1]) The results of this experiment are depicted in Figure 3 which shows that after ten days, nitrification, which had been inhibited by both methionine and aqueous wattle extract, recommenced. The inference is that wattle leaves contain some water-soluble constituent which is capable of inhibiting the nitrifyers in a manner similar to that of methionine. The matter has not yet been further investigated except that it has been found that wattle leaves on acid hydrolysis produce 0.03% (dry weight) of methionine.

CONCLUSION

The unexpected occurrence of soluble sulphate in the forest soils of East Africa appears to be due to the fact that sulphates remain in circulation between the trees and the soil. Whereas sulphates produced in, or added to most soils are quickly leached away, in forests the deep-rooted trees recover the salt and in due course return it to the topsoil partly as organic material and partly in its original form.

Although microbial oxidation of organically bound sulphur in the soil humus undoubtedly takes place, the process is extraordinarily slow as compared to that of carbon and nitrogen oxidation.

The decomposition of newly deposited foliage in forests proceeds rapidly with a high carbon-dioxide evolution but with a temporary, slight loss of inorganic nitrogen and sulphur. After the semi-decomposed forest litter stage has been reached, the rate of decomposition falls off and organically fixed nitrogen and sulphur are partly reconverted to inorganic forms. Thereafter as the macro-organic matter changes into humus its rate of decomposition becomes further reduced and although nitrification still proceeds the oxidation of the sulphur fraction is considerably retarded. The successive rates of decomposition are reflected in the corresponding respiratory quotients; thus after thirty days incubation the R.Q. of the fresh wattle leaves was 1.3 suggesting that carbohydrates had been breaking down, the R.Q. of the soil alone had fallen to 0.9 and that of the ground litter was intermediate at 1.1.

Addition of sulphur in the readily available form of calcium sulphate had the effect of causing increased sulphate formation. Although calcium sulphate also caused a slight increase in nitrate production no corresponding increase in carbon-dioxide production was apparent. Thus it appears that the oxidation of organic sulphur does not follow that of carbon or nitrogen as addition of nitrate nitrogen to soils of high C/N ratio is known to cause an increase in carbon-dioxide evolution, whereas adding sulphate-sulphur to a forest soil of high (200) C/S ratio had no such effect.

An aqueous extract of wattle leaves inhibited nitrification in the soil for a short period. It is thought that the amino acid methionine which can be produced from the leaves, may be involved in this inhibitory effect.

The addition of amino acids to the forest soil appears to have no effect upon its rate of decomposition as organic carbon equivalent in amount to that added as amino acid is rapidly oxidised and thereafter the equilibrium rate of oxidation of the soil humus is restored. Only if the added amino acids contain sulphur do they have any effect upon the oxidation of the soil sulphur, and in these cases they cause an increase in the production of inorganic sulphate.

SUMMARY

Sulphur measurements made on soils in East Africa revealed the unexpected occurrence of sulphates in forest subsoils. Soil profiles from plantation and natural forests were analysed and a general pattern of sulphur distribution was found.

It has been found that in addition to the sulphur cycle dependent upon microbiological oxidation of organic sulphur there exists a cycle whereby sulphate is circulated as such between trees and soil.

The biological oxidation of organic sulphur in the soil is an extremely slow process compared with that of carbon and nitrogen. Treatment with calcium carbonate, nitrates and non-sulphur-containing amino acids had no effect upon the subsequent sulphate production. Incubation with either S-containing amino acids or with calcium sulphate however, resulted in an increased rate of soil-sulphur oxidation and this effect is being further investigated.

An aqueous extract of wattle leaves proved to inhibit nitrification in the soil for short periods and evidence is presented which suggests that methionine may be involved in this effect.

Received January 28, 1957.

REFERENCES

1 Audus, L. J., A new soil perfusion apparatus. Nature (London) **158**, 419 (1946).
2 Birch, H. F. and Friend, M. T., Humus decomposition in East African soils. Nature (London) **178**, 500 (1956).
3 Chesnin, L. and Yien, C. H., Turbidimetric determination of available sulphates. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **15**, 149 (1950).
4 Hesse, P. R., The distribution of sulphur in the muds, water and vegetation of Lake Victoria. Hydrobiologia (In press).
5 Jensen, H. L. and Sørensen, H., The influence of organic sulphur compounds and enzyme inhibitors upon *Nitrosomonas europaea*. Acta Agr. Scand. **2**, 295 (1952).
6 Quastel, J. H. and Scholefield, P. G., Influence of organic nitrogen compounds on nitrifications in soil. Nature (London) **164**, 1068 (1949).
7 Walkley, A. and Black, I. A., An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. **37**, 29 (1934).